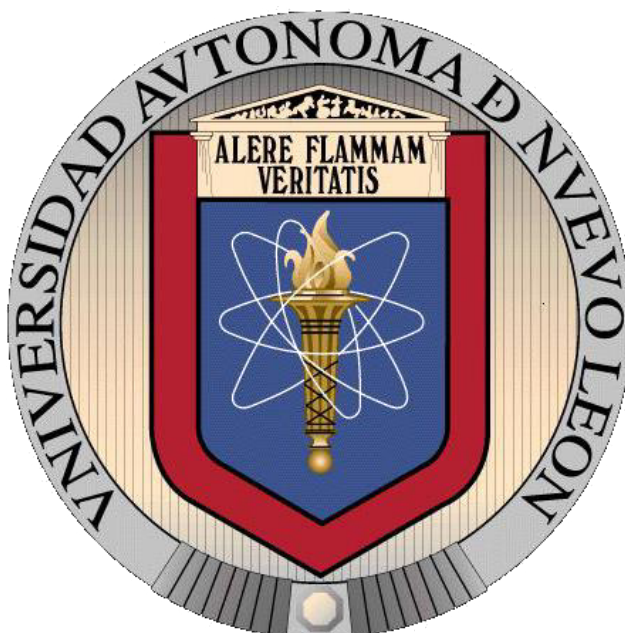


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS VASOS UMBILICALES  
PREECLÁMPTICOS PARA SU POSIBLE USO COMO INJERTOS  
VASCULARES EN LA REVASCULARIZACIÓN MIOCÁRDICA**

**POR**

**M.C.P. GUILLERMINA MUÑOZ RÍOS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN  
CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MORFOLOGÍA**

**AGOSTO, 2018**

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS VASOS UMBILICALES  
PREECLÁPTICOS PARA SU POSIBLE USO COMO INJERTOS  
VASCULARES EN LA REVASCULARIZACIÓN MIOCÁRDICA**

APROBACIÓN DE TESIS:



---

**Dr. C. Rodrigo Enrique Elizondo Omaña**

Director de Tesis



---

**Dr. C. Adolfo Soto Domínguez**

Co-Director de Tesis



---

**Dr. med. Santos Guzmán López**

Miembro de la Comisión de Tesis



---

**Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez**

Subdirector de Estudios de Posgrado

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LOS VASOS UMBILICALES  
PREECLÁPTICOS PARA SU POSIBLE USO COMO INJERTOS  
VASCULARES EN LA REVASCULARIZACIÓN MIOCÁRDICA**

PRESENTACIÓN DE TESIS:

M.C.P. Guillermina Muñoz Ríos

**Este trabajo se realizó en los departamentos de Anatomía Humana e Histología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Bajo la dirección del Dr. C. Rodrigo Enrique Elizondo Omaña y la co-dirección del Dr. C. Adolfo Soto Domínguez y el Dr. med. Santos Guzmán López como miembro de la comisión.**

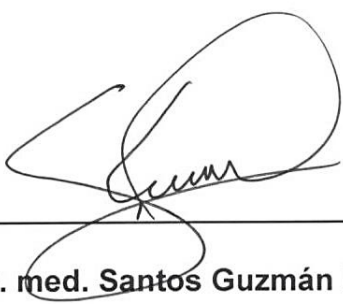
Firmas:



Dr. C. Rodrigo Enrique Elizondo Omaña  
Director de Tesis



Dr. C. Adolfo Soto Domínguez  
Co-Director de Tesis



Dr. med. Santos Guzmán López  
Comisión de Tesis

## DEDICATORIA

A mi familia, mis padres Sr. Rodolfo y Sra. Guillermina, por ser los dos pilares fundamentales en mi vida; a mis hermanos, Sonía, Alonso y Everardo; por siempre mi respaldo.

A los estudiantes que, junto a ustedes y por ustedes llegué a este punto.

A la humanidad doliente que, para ustedes estoy aquí.



## AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por llevarme de la mano y mantenerme en el camino.

A **mi familia**, mis padres y mis hermanos; por su amor y apoyo incondicional. **Mis sobrinas**, Arely y Aremy, por inspirarme a ser mejor persona y mejor ejemplo para ustedes cada día. Gracias por mantenerme de pie y con la frente en alto; por darme el coraje de perseguir mis sueños a donde quiera que estos me lleven. Ustedes son mi motor y mi razón de ser.

**Dr. med. Santos Guzmán López**, por abrirme las puertas de su Departamento y permitirme realizar este proyecto.

**Dr. C. Rodrigo Elizondo Omaña**, por invitarme a formar parte de su equipo de trabajo y confiar en mí para realizar el proyecto; por su apoyo, sus enseñanzas y darme una oportunidad para adentrarme en el mundo de la ciencia.

**Dr. C. Adolfo Soto Domínguez**, mi maestro. Gracias por enseñarme tanto, por la confianza, por escucharme y animarme. Por esas tardes llenas de ciencia y conocimiento. Por guiarme hacia la excelencia y estar siempre al pie del cañón. Gracias por tanto Dr.

A **CONACYT**, a la **Universidad Autónoma de Nuevo León** y la **Facultad de Medicina**, por respaldar y sustentar el proyecto, y brindarme un lugar de trabajo.

A los estudiantes, **Aldo** y **Braulio**, por su dedicación y esfuerzo, por sus ganas de aprender y ser mejores, gracias por trabajar a la par conmigo, por ayudarme a sacar este proyecto adelante y no rendirse.

A los **profesores de los Departamentos de Histología y Anatomía**, gracias por sus enseñanzas y compartirme de su experiencia, por darme tantos consejos y guiarme a través del camino de la ciencia.

A la **Dra. María del Carmen Theriot Girón**, por aceptar tan amablemente a apoyarnos con el proyecto.

A la **Dra. Mary**, por su comprensión, sus consejos y sus atenciones. Por ser esa persona con una gran calidez humana.

A mi cuadro chico, **Rocío y Yolanda**, muchas gracias por todo su apoyo, no solo en el aspecto académico, también en lo personal, muchas gracias por estar siempre al pendiente de mí y tenderme la mano cuando lo necesité.

A mis **compañeros de los laboratorios del Departamento de Histología**, siempre compartiendo conocimientos y risas, dentro y fuera del laboratorio. Mis amigas, Ana y Abigail, gracias por esas experiencias que vivimos juntas, en especial a Abigail, gracias por siempre estar ahí para ayudarme a salir adelante y enseñarme tantas cosas de laboratorio, por tu disposición para escuchar y ayudarme tanto en lo personal como en lo académico.

A mis **compañeros de generación**, sin duda, la mejor generación; mejores compañeros y amigos no me pudieron haber tocado. Gracias por compartirme tanto y hacerme parte de ustedes.

A mis compañeros del área de investigación en anatomía (**Brenda, Víctor, Verdines, Miguel, Kouatzin y Terán**), gracias por su apoyo y sus consejos, un privilegio haber coincidido con ustedes. **Jimmy, Vale, Arelie y Hugo**, a ustedes también, gracias. Gracias por hacer mis días más llevaderos, por llenarlos de risas y bellos momentos; por facilitarme las cosas y estar ahí para mí.

Al **personal de los Departamentos de Anatomía Humana e Histología**, por toda su ayuda y su apoyo; por regalarme una sonrisa todos los días.

A **mis amigos**, regios y tapatíos, gracias por comprenderme y ponerle ese toque divertido a esta travesía. Me siento afortunada de tenerlos en mi vida.

**Angie**, siempre sacándome una sonrisa en el momento preciso. Muchas gracias, pequeña hermana.

Al **Departamento de Morfología de la Universidad de Guadalajara**, por su apoyo incondicional en todo momento para que se llevara a cabo este proyecto; al personal que mostró tanta disposición, apoyo, ánimos y palabras de aliento. Mis amigos, **Aureliano, Chuy, Fernanda, Martha, Fernando** y al grupo de instructores, gracias por ayudarme tanto en el proyecto, así como por escucharme, aconsejarme y darme palabras de aliento siempre que lo necesité. Por ser ese “escape” cuando a veces las cosas no iban bien. **Dra. Tere Limón, Dra. Adriana Balderas y Dra. Edith Oregón**, gracias por darme ese empujón y animarme a dar este gran paso.

Y por último, y no por ello menos importante, un especial agradecimiento al **Dr. Mauricio Bañuelos Rizo**, por apoyarme, respaldarme y aconsejarme, aún en la distancia, siempre pendiente de mis pasos. Por siempre un gran ejemplo de humildad y tenacidad. Y a la **Dra. Norma Angélica Andrade Torrecillas**, mi primer fuente de inspiración, quien me enseñó este camino y me ha acompañado en todo el trayecto, quién pese a la distancia siempre está presente recordándome, que *“No basta con ser buenos, hay que ser excelentes”*, como desde el primer día de clases. Gracias por verme, cuando ni yo me veía, por confiar en mí cuando ni yo lo hacía. Gracias por no dejarme sola. Ustedes me han ayudado a construir mis triunfos y me han ayudado a levantarme durante mis derrotas. Gracias por formarme y ayudarme a llegar a este punto.

A ustedes les digo que, este logro no es solo mío, es nuestro.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>01</b>
<b>1.1.Marco teórico .....</b>	<b>03</b>
1.1.1. Cirugía de revascularización miocárdica .....	03
1.1.2. Uso de vasos umbilicales como injertos vasculares .....	04
1.1.3. Evaluación de los vasos umbilicales en la cirugía de revascularización miocárdica y periférica .....	04
1.1.4. Hallazgos en vasos preeclámpticos .....	05
<b>1.2.Planteamiento del problema .....</b>	<b>08</b>
<b>1.3.Pregunta de investigación .....</b>	<b>09</b>
<b>1.4.Justificación .....</b>	<b>09</b>
<b>1.5.Objetivo general .....</b>	<b>10</b>
<b>1.6.Objetivos específicos .....</b>	<b>10</b>
<b>1.7.Hipótesis .....</b>	<b>11</b>
<b>1.8.Diseño del Estudio .....</b>	<b>11</b>
<b>2. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	
<b>2.1.Material .....</b>	<b>12</b>
2.1.1. Muestras biológicas .....	12
2.1.2. Grupos .....	13
2.1.3. Reactivos .....	15
2.1.4. Material de técnicas morfológicas .....	15
2.1.5. Equipo .....	16
<b>2.2.Estrategia experimental .....</b>	<b>16</b>

<b>2.3. Métodos</b> .....	17
<b>2.3.1. Obtención de la muestra</b> .....	17
<b>2.3.2. Técnica histológica de inclusión con parafina</b> (procesamiento de órganos) .....	18
<b>2.3.3. Análisis descriptivo</b> .....	19
<b>2.3.3.1. Hematoxilina y eosina (H y E), tricrómico de Masson</b> <b>y Orceína</b> .....	19
<b>2.3.4. Análisis cuantitativo</b> .....	20
<b>2.3.4.1. Orceína, tricrómico de Masson modificado e</b> <b>inmunohistoquímica</b> .....	20
<b>2.3.4.1.1. Morfometría</b> .....	20
<b>2.3.5. Análisis estadístico</b> .....	24
<b>2.3.6. Consideraciones éticas</b> .....	25
<b>3. RESULTADOS</b> .....	26
<b>3.1. Morfología normal de los vasos umbilicales humanos</b> ....	26
<b>3.2. La PE induce cambios estructurales en la pared de los</b> <b>vasos umbilicales</b> .....	29
<b>3.3. La PE no induce cambios en las fibras elásticas de la</b> <b>pared de los vasos umbilicales sanos y de PE</b> .....	31
<b>3.4. PE no induce cambios en el colágeno de las tunicas de</b> <b>los vasos umbilicales</b> .....	32
<b>3.5. La PE induce disminución del colágeno tipo I en la túnica</b> <b>íntima de la AU</b> .....	33

<b>3.6. Disminución de colágeno tipo IV en la túnica íntima de los vasos umbilicales de pacientes con PE .....</b>	<b>34</b>
<b>3.7. La PE no induce cambios en la positividad para actina específica de músculo liso en las tunicas de los vasos umbilicales.....</b>	<b>35</b>
<b>3.8. Cambios en el grosor de la pared y diámetro de los vasos umbilicales sanos y de pacientes con PE .....</b>	<b>36</b>
<b>3.9. Morfología normal de la arteria coronaria descendente anterior y vena safena interna humanas .....</b>	<b>37</b>
<b>3.10. Las fibras elásticas predominan en la túnica media la ACDA y la SV .....</b>	<b>39</b>
<b>3.11. El colágeno forma láminas bien definidas entre las fibras musculares de la túnica media en la SV comparada con la ACDA .....</b>	<b>40</b>
<b>3.12. El colágeno tipo I se encuentra presente en la pared de la ACDA y la SV .....</b>	<b>41</b>
<b>3.13. Las fibras de colágeno tipo IV predominan en la túnica media de la ACDA .....</b>	<b>42</b>
<b>3.14. La positividad para actina específica de músculo liso predomina en la túnica media de la ACDA y la SV .....</b>	<b>43</b>
<b>3.15. Cambios estructurales de la pared vascular de los vasos umbilicales normales y de las pacientes con PE, la ACDA y la SV .....</b>	<b>44</b>

3.16. Cambios estructurales de la pared vascular de los vasos umbilicales sanos, de las pacientes con PE, ACDA y SV ..	46
3.17. Resultados de la cuantificación de los componentes estructurales de la pared vascular de los vasos umbilicales normales y de las pacientes con PE, la ACDA y la SV .....	55
4. DISCUSIÓN .....	57
5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS .....	64
2.1 Conclusiones .....	64
2.2 Perspectivas .....	64
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	66
7. APÉNDICE A .....	71
8. APÉNDICE B .....	78

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA</b>	<b>PAG.</b>
<b>1</b> Representación de la morfometría de las tunicas de la pared vascular.....	22
<b>2</b> Representación de cuantificación de elastina .....	23
<b>3</b> Arteria umbilical humana control .....	26
<b>4</b> Vena umbilical humana control .....	27
<b>5</b> Vena umbilical humana control .....	28
<b>6</b> La PE induce cambios estructurales en la túnica media de las AU ...	29
<b>7</b> La PE induce cambios morfológicos en las tunicas íntima y media de la HUV .....	30
<b>8</b> La PE no induce cambios en las fibras elásticas de la pared de los vasos umbilicales sanos y de pacientes .....	31
<b>9</b> PE no induce cambios en el colágeno de las tunicas de los vasos umbilicales .....	32
<b>10</b> La PE induce la disminución del colágeno de tipo I en la túnica íntima de la AU .....	33
<b>11</b> Disminución de colágeno tipo IV en la túnica íntima de los vasos umbilicales de pacientes con PE .....	34
<b>12</b> La PE no induce cambios en la positividad para actina específica de músculo liso en las tunicas de los vasos umbilicales.....	35
<b>13</b> Morfología de la arteria coronaria descendente anterior humana ....	37
<b>14</b> Morfología de la vena safena interna humana .....	38



<b>15</b> Las fibras elásticas predominan en la túnica media de la ACDA y la SV .....	39
<b>16</b> El colágeno forma láminas bien definidas entre las fibras musculares de la túnica media en la SV comparada con la ACDA .....	40
<b>17</b> El colágeno tipo I se encuentra presente en la pared de la ACDA y la SV .....	41
<b>18</b> Las fibras de colágeno tipo IV predominan en la túnica media de la ACDA .....	42
<b>19</b> La positividad para actina específica de músculo liso predomina en la túnica media de la ACDA y la SV .....	43

## LISTA DE TABLAS

<b>TABLA</b>	<b>PAG.</b>
<b>Tabla 1</b> Análisis comparativo del entre AU control y la AU de paciente con PE .....	36
<b>Tabla 2</b> Análisis comparativo del entre HUV control y la HUV de paciente con PE .....	36
<b>Tabla 3</b> Análisis estructurales de la pared vascular de los vasos umbilicales normales y de pacientes con PE, la ACDA y la SV .....	44
<b>Tabla 4</b> Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre la HUV control y de pacientes con PE, ACDA y SV .....	45
<b>Tabla 5</b> Análisis comparativo del grosor íntima-media entre AU de pacientes con PE y ACDA .....	46
<b>Tabla 6</b> Análisis comparativo del grosor íntima-media entre AU control y ACDA .....	47
<b>Tabla 7</b> Análisis comparativo del grosor íntima-media entre HUV de pacientes con PE y ACDA .....	47
<b>Tabla 8</b> Análisis comparativo del grosor íntima-media entre HUV control y ACDA .....	48
<b>Tabla 9</b> Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre AU de pacientes con PE y ACDA .....	48
<b>Tabla 10</b> Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre AU control y ACDA .....	49

<b>Tabla 11</b> Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre HUV control y ACDA .....	50
<b>Tabla 12</b> Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre HUV de pacientes con PE y ACDA .....	51
<b>Tabla 13</b> Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre AU de pacientes con PE y SV .....	51
<b>Tabla 14</b> Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre AU control con PE y SV .....	52
<b>Tabla 15</b> Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre HUV control y SV .....	53
<b>Tabla 16</b> Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre HUV de pacientes con PE y SV .....	54
<b>Tabla 17</b> Análisis comparativo de los componentes estructurales de la pared vascular de los vasos umbilicales control y de pacientes con PE, la ACDA y la SV .....	55

## **APÉNDICE A**

### **TÉCNICAS Y MÉTODOS**

	<b>PAG.</b>
<b>A.1 Técnica histológica general .....</b>	<b>71</b>
<b>A.2 Tinción con Hematoxilina y Eosina (H y E) .....</b>	<b>72</b>
<b>A.3 Tricrómico de Masson .....</b>	<b>73</b>
<b>A.4 Tricrómico de Masson modificado .....</b>	<b>74</b>
<b>A.5 Tinción con Orceína .....</b>	<b>75</b>
<b>A.6 Técnica inmunohistoquímica LSAB+ .....</b>	<b>76</b>

## APÉNDICE B

### SOLUCIONES

#### PAG.

#### B.1 ANÁLISIS MORFOLÓGICO

<b>B.1.1</b> Formalina amortiguada al 4% .....	78
<b>B.1.2</b> PBS 10x .....	78
<b>B.1.3</b> Solución de agua amoniacal .....	79
<b>B.1.4</b> Eosina .....	79
<b>B.1.5</b> Solución de alcohol-ácido .....	79
<b>B.1.6</b> Hematoxilina de Gill .....	79
<b>B.1.7</b> Hematoxilina férrica de Weigert .....	80
<b>B.1.8</b> Solución de Fucsina ácida y Escarlata de Biebrich .....	80
<b>B.1.9</b> Solución de ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico .....	80
<b>B.1.10</b> Solución de azul de anilina al 2.5% .....	80
<b>B.1.11</b> Solución acuosa de ácido acético al 1% .....	81
<b>B.1.12</b> Solución fijadora de Bouin .....	81
<b>B.1.13</b> Solución de orceína al 1% .....	81
<b>B.1.14</b> Solución de alcohol-ácido al 1% .....	82

#### B.2 ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO

<b>B.2.1</b> TBST 1x .....	83
<b>B.2.2</b> Suero de caballo al 10% .....	83
<b>B.2.3</b> Solución DAB .....	83

## NOMENCLATURA

%	Porcentaje
>	Mayor que
<	Menor que
*	Diferencia estadísticamente significativa
μL	Microlitro
μm	Micrómetros
mm	Milímetros
mL	Mililitro
AC	Arteria Coronaria
ACDA	Arteria Coronaria Descendente Anterior
AU	Arteria Umbilical
DCI	Derivación coronaria mediante injerto
DCP	Derivación cardiopulmonar
FGR	Restricción del crecimiento fetal
Fig	Figura
HUV	Vena Umbilical Humana
PE	Preeclampsia
PTFE	Politetrafluroetileno
SV	Vena Safena
TA	Tensión Arterial
UDO	Unidades de Densidad Óptica

## RESUMEN

**GUILLERMINA MUÑOZ RÍOS**

**Fecha de Graduación: Agosto 2018**

**Universidad Autónoma de Nuevo  
León.  
Facultad de Medicina**

**Título**

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA  
DE LOS VASOS UMBILICALES  
PREECLÁMPTICOS PARA SU POSIBLE  
USO COMO INJERTOS VASCULARES  
EN LA REVASCULARIZACIÓN  
MIOCÁRDICA.**

**83**

**Número de páginas:  
Área de estudio: Morfología**

**Candidata para el grado de Maestro en  
Ciencias con Orientación en  
Morfología.**

**Propósito del estudio:** Dentro de las enfermedades cardiovasculares, la cardiopatía coronaria es una de las principales causas de muerte en el mundo. La estenosis arterial es una de las etiologías cuyo tratamiento incluye la cirugía de revascularización con injertos autólogos. Para la selección del injerto se debe tomar en cuenta la similitud morfológica entre el injerto y el vaso obstruido. Debido a que su uso es limitado, una opción es la vena umbilical humana. La preeclampsia (PE) es un trastorno hipertensivo cada vez más frecuente en mujeres embarazadas, por lo que es oportuno estudiar los cambios morfológicos inducidos en los vasos umbilicales como sustitutos vasculares, y su similitud con la arteria coronaria (AC). El objetivo fue evaluar las características morfológicas de los vasos umbilicales preeclámpticos para su posible uso como injertos vasculares coronarios.

Se colectaron cordones umbilicales de pacientes diagnosticadas con y sin PE, se tomaron 3cm del extremo placentario. Además, se obtuvieron 3cm de venas safenas del tercio superior de la región sural de cadáveres humanos. También, se disecó la arteria coronaria descendente anterior (ACDA) desde su inicio en el tabique hasta su punto de terminación en el vértice de corazones cadavéricos humanos, sin datos de cardiopatía. Todas las muestras se fijaron en formol al 4% en PBS 1X, se procesaron mediante la técnica histológica convencional y se tiñeron con hematoxilina y eosina, Orceína y tricrómico de Masson con y sin modificación. Además de inmunomarcaje con anticuerpos específicos para colágeno I, colágeno IV y actina específica de músculo.

**Conclusiones y perspectivas:** Las arterias umbilicales mostraron un calibre similar a la ACDA, característica importante que debe ser tomada en cuenta al momento de elegir un injerto vascular. Además, se demostró que los cambios de presión durante el embarazo inducen cambios estructurales en la pared de los vasos umbilicales, los cuales asemejan su estructura con la ACDA. Este cambio estructural sugiere que tienen una pared resistente, lo que les pudiera ayudar a mejorar su respuesta adaptativa a altas presiones, y en un futuro ser propuestos como sustitutos vasculares. Como perspectiva quedan realizar pruebas de biomecánica para analizar la resistencia y elasticidad de la pared vascular, aumentar la muestra de vasos umbilicales a analizar, realizar técnicas especiales como impregnación argéntica de Wilder para observar y cuantificar las fibras reticulares (colágeno III), y probar los vasos umbilicales con PE en un modelo *in vivo* para evaluar su respuesta.

Firma del Director de Tesis

---

**Dr. C. Rodrigo E. Elizondo Omaña**

## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUCCIÓN**

#### **1. INTRODUCCIÓN**

Las enfermedades cardiovasculares conforman un grupo de desórdenes del corazón y de los vasos sanguíneos entre los cuales figura la cardiopatía coronaria. Son la principal causa de muerte en todo el mundo. En 2012, aproximadamente, 17.5 millones de personas fallecieron, de las cuales, 7.4 millones fueron a causas de cardiopatía coronaria. Los factores de riesgo son: hipertensión arterial, hiperglucemia, hiperlipidemia y sobrepeso u obesidad, además de tabaquismo, mala alimentación, sedentarismo, alcoholismo y diabetes<sup>(1)</sup>.

La estenosis u obliteración arterial es una de las etiologías de los ataques cardíacos en las que el tratamiento de revascularización quirúrgica con injertos autólogos es el indicado<sup>(2)</sup>. Existe una gran variedad de opciones de conductos vasculares para la cirugía de revascularización miocárdica (Bypass coronario) para el cual es de suma importancia una adecuada selección de dicho injerto; esto asegurará la durabilidad, permeabilidad y función de este. Para ello se debe tomar en cuenta la similitud morfológica entre el injerto y la arteria coronaria. Entre las conductos vasculares más utilizados encontramos: la arteria torácica interna, vena safena, arteria radial, arteria gastroepiploica derecha; y en menor medida la arteria radial, arteria esplénica y arteria epigástrica inferior<sup>(3)</sup>.



A pesar de esta amplia variedad de conductos vasculares, se ha visto limitado su uso debido a su poca disponibilidad o falta de compatibilidad, por lo que se ha recurrido al uso de vasos sanguíneos sintéticos haciendo uso de biomateriales, en los vasos de pequeño calibre (<6mm de diámetro) sin tener un resultado satisfactorio. Desde 1973, en Estados Unidos, Dardik y Dardik comenzaron a hacer uso de la vena umbilical humana (HUV) en el trasplante de arterias y a partir de ello se desarrollaron una serie de estudios que evalúan la aplicación de esta vena en el trasplante arterial<sup>(4)</sup>.

La preeclampsia (PE) se define como un trastorno hipertensivo acompañado de proteinuria, inducido por el embarazo cuyas manifestaciones clínicas aparecen después de la semana 20 de gestación. Es una de las principales causas de muerte materna cuya prevalencia oscila entre 1.8-16.7% y su incidencia va del 2 al 10% de los embarazos. Es 7 veces mayor en los países en desarrollo que en los países desarrollados<sup>(5)</sup>. Ya que este padecimiento es frecuente y afecta a los vasos sanguíneos, es oportuno estudiar los cambios morfológicos en los vasos umbilicales. Estos pueden ser comparados con las arterias coronarias (AC) para valorar su compatibilidad como sustitutos vasculares en la cirugía de revascularización coronaria.

## 1.1 MARCO TEÓRICO

### 1.1.1 Cirugía de revascularización miocárdica

La cirugía de revascularización miocárdica está indicada en el tratamiento de pacientes con enfermedad coronaria<sup>(6)</sup>. La derivación coronaria mediante injerto (DCI) convencional se realiza a través de una incisión de esternotomía media, utilizando un equipo de circulación extracorpórea para derivación cardiopulmonar (DCP) y cardioplejía a baja temperatura para proteger el miocardio<sup>(7)</sup>.

En casi todos los casos se usa la arteria mamaria izquierda como la primera opción para la derivación de la arteria coronaria descendente anterior (ACDA) izquierda, que es el vaso más importante del corazón<sup>(3,7)</sup>. Los injertos de vena safena (SV), que al principio constituían la principal opción para la DCI, aún son muy utilizados por lo general para re-establecer circulación a vasos secundarios localizados en las caras lateral y posterior del corazón. Una vez que se establece la DCP y con el corazón en paro, se practica una arterioectomía coronaria pequeña y se crea una anastomosis distal entre la SV y la AC. Después se anastomosan los injertos venosos entre la rama coronaria distalmente, y proximalmente con la aorta ascendente<sup>(7)</sup>.

### **1.1.2 Uso de los vasos umbilicales como injertos vasculares**

En 1992, Johnson et al., realizaron un estudio para evaluar tres opciones de injerto vascular femoropoplíteo por arriba de la rodilla. En el período comprendido entre 1983 y 1988 se atendieron 752 pacientes los cuales fueron seleccionados de manera aleatoria para recibir uno de los tres injertos a evaluar: Politetrafluroetileno (PTFE) N=265, HUV N=261 o SV N=226, para un injerto de bypass femoropoplíteo. Los pacientes fueron evaluados cada 3 meses durante el primer año, y a partir de este cada seis meses. Las tasas de permeabilidad primaria entre los conductos fueron similares en los dos primeros años: SV, 81%, HUV, 70% y PTFE, 69%. A los 5 años los injertos de SV se mantenían con una permeabilidad de 73% mientras que la HUV mantenía el 53% y el PTFE el 39%. Por lo que se concluyó que el injerto de SV debe considerarse como el injerto de bypass de elección para reconstrucción femoropoplíteo por encima de la rodilla<sup>(8)</sup>.

### **1.1.3 Evaluación de los vasos umbilicales en la cirugía de revascularización miocárdica y periférica**

En otro estudio realizado en 2012 por Halhosseini Hamedani et al., compararon las propiedades mecánicas entre la SV y la HUV. Con los resultados obtenidos se concluye que la SV tiene una pared más rígida que la HUV, lo que

la hace más apta para su uso como injerto vascular en la cirugía de bypass coronario debido a las elevadas presiones arteriales que manera la aorta<sup>(9)</sup>.

Un estudio hecho durante el 2008 por Wen-Chun Li et al., compararon la microestructura de la HUV con la de otras arterias humanas, entre ellas la coronaria derecha, en las cuales midieron la cantidad de colágeno, elastina y músculo liso. Los resultados sugirieron que la HUV de las pacientes de 37-40 semanas de gestación son similares a las arterias de pequeño calibre por lo que pueden ser utilizadas como injertos vasculares de estos vasos<sup>(4)</sup>.

#### **1.1.4 Hallazgos en vasos preeclámpticos**

En el 2000, Junek et al., estudiaron cordones umbilicales de 7 pacientes con PE, 14 pacientes normotensas y 6 con restricción del crecimiento fetal (FGR). Se tomaron 5 cm del extremo placentario y se analizaron mediante inmunohistoquímica con anticuerpos para  $\alpha$ -actina de músculo liso y orceína para fibras elásticas. En las venas, encontraron división de las fibras elásticas y una disminución en el grosor de las arterias, por lo que concluyen que la preeclampsia induce una disminución en el grosor de la pared de la arteria relacionado con la cantidad de elastina contenida en la pared de la arteria<sup>(10,11)</sup>.

En 2002, Inan et al., analizaron cordones umbilicales de pacientes entre 35 – 40 semanas de gestación, diagnosticadas con PE de las cuales 32 contaban con un eco Doppler normal, 38 con eco Doppler anormal y 31 con hipertensión

crónica. Se tiñeron con H y E en las cuales se observó una disminución del cordón umbilical, el área de la gelatina de Wharton, la arteria y la vena umbilicales eran más pequeñas. Los cordones de pacientes con PE y Doppler anormal presentaron una disminución de la pared de los vasos, así como de la luz de los vasos umbilicales. Concluyendo que los vasos estaban afectados probablemente por un mecanismo de hipoplasticidad<sup>(10,12)</sup>.

En el 2008, Koech et al., obtuvieron cordones umbilicales de 9 pacientes con PE severa, 9 de PE leve y 18 controles (pacientes normotensas); se obtuvieron los extremos fetal, central y placentario. Las muestras se tiñeron con H y E, tricrómico de Masson y tricrómico de Van Gieson para medir el área de la luz así como el área y grosor de la pared. En las venas, encontraron la luz más pequeña, la pared más gruesa a expensas de las tunicas íntima, media, y la lámina elástica más gruesa. La relación pared/luz estaba aumentada en las venas con PE. Desde la placenta hasta el extremo fetal había más elastina. El músculo liso de la túnica media en el segmento fetal se encontraban más trabeculaciones y su orientación era oblicua. La lámina elástica se encontraba duplicada en las venas con PE severa en el segmento fetal. Las arterias no tuvieron diferencias. Los cambios estructurales eran predominantes en el extremo fetal<sup>(10,13)</sup>.

En 2011, Blanco et al., estudiaron 9 cordones umbilicales de pacientes con PE y FGR así como 80 pacientes normotensas de 35 semanas de gestación. Se cortaron 2cm del extremo placentario, se fijaron y se prepararon para su tinción con H y E, tricrómico de Masson, orceína acética, ácido peryódico de Schiff, azul alcian y tricrómico de Mallory. Midieron la luz, el área de la capa muscular y la

capa muscular externa. Observaron que en las venas con PE la relación pared/luz era mayor, y en la arterias con preeclampsia las áreas exteriores e interiores, el área de la luz y la relación de pared/luz, también era mayor; concluyendo que se trataba de cambios tempranos de envejecimiento<sup>(10,14)</sup>.

En 2016, Sharony et al., obtuvieron cordones umbilicales de 15 pacientes con PE, 72 con FGR, 36 de pacientes con PE + FGR y 50 de pacientes normotensas; las edades gestacionales oscilaban entre las 30 y las 40 semanas de gestación. Se obtuvieron 3 segmentos pequeños de los extremos fetal, central y placentario, se fijaron y se tiñeron con H y E y tricrómico de Masson; se midió el cordón umbilical, la gelatina de Wharton, el área de la luz y el grosor de la pared de los vasos umbilicales y la distancia entre estos. El cordón umbilical fue menor en las pacientes con FGR + PE sin mostrar ningún cambio en el grosor de la pared; las venas disminuyeron su pared en pacientes de FGR + PE y la distancia entre arterias fue menor en FGR y significativo en PE; y las arterias disminuyeron el área de la pared en FGR y FGR + PE<sup>(10)</sup>.

En 2016, Vázquez et al., hicieron un estudio con cordones de 92 mujeres embarazadas, de las cuales 20 eran embarazos normales y el resto se trataban de pacientes con alguna patología dentro de las cuales 9 de ellas cursaban con PE. Cortaron 2cm del extremo placentario de cada cordón para posteriormente hacer cortes histológicos y teñirlos con H&E, tricrómico de Masson, orceína, PAS, azul alcian y tinción de Mallory. Los parámetros a evaluar en las venas fueron el área de la superficie de la luz, el área de la superficie de la capa muscular; en arterias fue el área de la superficie de la luz, el área de la capa muscular externa,

el área de la capa muscular interna así como la proporción pared: lumen. Los resultados obtenidos de estas mediciones, en arterias con PE, fueron hasta 2 o 3 veces más elevados que los controles, mientras que en las venas no hubo muchas diferencias<sup>(15)</sup>.

En 2016, Jain et al., tomaron 50 cordones umbilicales de pacientes sanas entre 37 y 40 semanas de gestación, y 50 cordones de pacientes con PE, descartando aquellas pacientes que tuvieran alguna otra patología. Se cortaron 2 cm del extremo placentario, se realizaron cortes y se tiñeron con H y E para medir el área total del cordón, el área de la gelatina de Wharton, el área del vaso sanguíneo, grosor de la pared del vaso. Los resultados de dichas evaluaciones de ambos vasos resultaron menores en las cordones con PE que en los controles<sup>(16)</sup>.

## **1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La cirugía de revascularización coronaria es considerada como una cirugía mayor, la cual implica al paciente ser manipulado profundamente de la región torácica. Haciendo una segunda cirugía en la extremidad inferior, se toma la vena safena la cual servirá como injerto en dicho procedimiento. Esto eleva la morbi/mortalidad del paciente, prolongando el tiempo quirúrgico, requiriendo de otra intervención trans-quirúrgica, y limita la recuperación del paciente. De igual

manera, dependiendo de las características del paciente y comorbilidades, en ocasiones el injerto no suele estar disponible.

### **1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Pueden ser utilizados los vasos umbilicales preeclámpticos como injertos vasculares en la revascularización miocárdica (Bypass coronario)?

### **1.4 JUSTIFICACIÓN**

Dada la falta de injertos vasculares óptimos para la cirugía de revascularización miocárdica y la poca o difícil disponibilidad de éstos, se ha tomado en cuenta a los vasos umbilicales, son de fácil obtención y han tenido resultados favorables en este tipo de cirugías, además de evitar una segunda intervención en el mismo tiempo quirúrgico (safenectomía).

La PE puede inducir cambios estructurales y funcionales en las paredes de los vasos umbilicales que pueden favorecer características más adecuadas para funcionar como reemplazo de las arterias coronarias. Hasta el momento no hay un estudio que analice en conjunto la totalidad de la pared de los vasos umbilicales en pacientes con PE y evalúe sus características como posibles



injertos vasculares en la cirugía de revascularización miocárdica (Bypass coronario).

### **1.5 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar las características morfológicas de los vasos umbilicales preeclámpticos para su posible uso como injertos vasculares coronarios.

### **1.6 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Obtener vasos umbilicales de pacientes sanas y las que cursen con PE.
- ✓ Determinar las diferencias morfológicas entre los vasos umbilicales normales y preeclámpticos.
- ✓ Comparar las características morfológicas de los vasos umbilicales contra la arteria coronaria descendente anterior y la vena safena interna.

## **1.7 HIPÓTESIS**

- Los vasos umbilicales preeclámpticos presentan características morfológicas en su pared que les permiten ser utilizados como injertos vasculares coronarios.

## **1.8 DISEÑO DEL ESTUDIO**

- Transversal, descriptivo y comparativo.

## **CAPÍTULO 2**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

## **2. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **2.1 MATERIAL**

#### **2.1.1 Muestras biológicas**

Se analizaron 162 vasos sanguíneos: 27 arterias y venas umbilicales de pacientes con PE, 27 arterias y venas umbilicales de pacientes sin PE, 27 SV mayores, 27 ACDA. Obtenidas del servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, del Departamento de Anatomía Humana del Facultad de Medicina, de Departamento de Anatomía Humana de la Facultad de Odontología, ambos de la Universidad Autónoma de Nuevo León y del Departamento de Morfología del Centro Universitario de Ciencias de la Salud, de la Universidad de Guadalajara.

## 2.1.2 GRUPOS

- **Criterios de inclusión**

VASOS UMBILICALES:

- Cordones umbilicales de pacientes embarazadas, de 18 a 45 años de edad, con producto único y de término, con diagnóstico de PE (TA > 140/90 en más de 2 ocasiones en un intervalo de 2 horas o una sola >160/110, proteinuria >300 mg en orina de 24 horas, o bien, tira reactiva +1, y signos de vasoespasmo).

VENA SAFENA MAYOR:

- Cadáveres humanos, masculino o femenino, de 18 a 80 años de edad, con una o dos extremidades inferiores integra, sin datos de traumatismo o necrosis.

ARTERIA CORONARIA DESCENDENTE ANTERIOR:

- Cadáveres humanos, masculino o femenino, de 18 a 80 años de edad sin cardiopatía evidente macroscópicamente.

- **Criterios de exclusión**

VASOS UMBILICALES:

- Cordones umbilicales de pacientes que no cuenten con cifras tensionales mayores a 140/90, que cursen con alguna otra patología además de la PE, de embarazos con productos múltiples y/o pretérmino.

VENA SAFENA MAYOR:

- Cadáveres humanos que no cuenten con extremidades inferiores, o bien, estas no estén integras (completas), con datos de traumatismo o necrosis en extremidades inferiores.

ARTERIA CORONARIA DESCENDENTE ANTERIOR:

- Corazones de cadáveres humanos que presenten alguna cardiopatía evidente macroscópicamente.

- **Criterios de eliminación**

VASOS UMBILICALES:

- Cordones umbilicales de pacientes diagnosticadas con PE que se rompan al momento del alumbramiento de la placenta.

### 2.1.3 Reactivos

Formol al 37%, PBS, Alcohol al 100% y 96%, xilol, parafina, cassettes para inclusión con tapa, navajas, gelatina, resina sintética (entellan), portaobjetos, cubreobjetos, Hematoxilina, Eosina, alcohol ácido, agua amoniacal, ácido pícrico, ácido fosfotúngstico, ácido fosfomolibdico, hematoxilina anhidra, cloruro férrico, ácido clorhídrico, escarlata de Bielbrich, fucsina ácida, ácido acético glacial, azul de anilina y orceína.

Anticuerpo primario anti-actina específica de músculo (Actin muscle Monoclonal Antibody (HHF35), eBioscience™), anticuerpo primario anti-colágeno I (Anti-Collagen IV antibody ab6586), anticuerpo primario anti-colágeno IV (Anti-Collagen I antibody [COL-1] ab90395), bloqueador de peroxidasa, bloqueador de proteínas, anticuerpo secundario, HRP, sustrato del cromógeno, 3,3'-Diaminobendicina, de Abcam, TBST (Tris-Buffer-Salino con Tween 20) y TRS (Target retrieval solution High pH 50x).

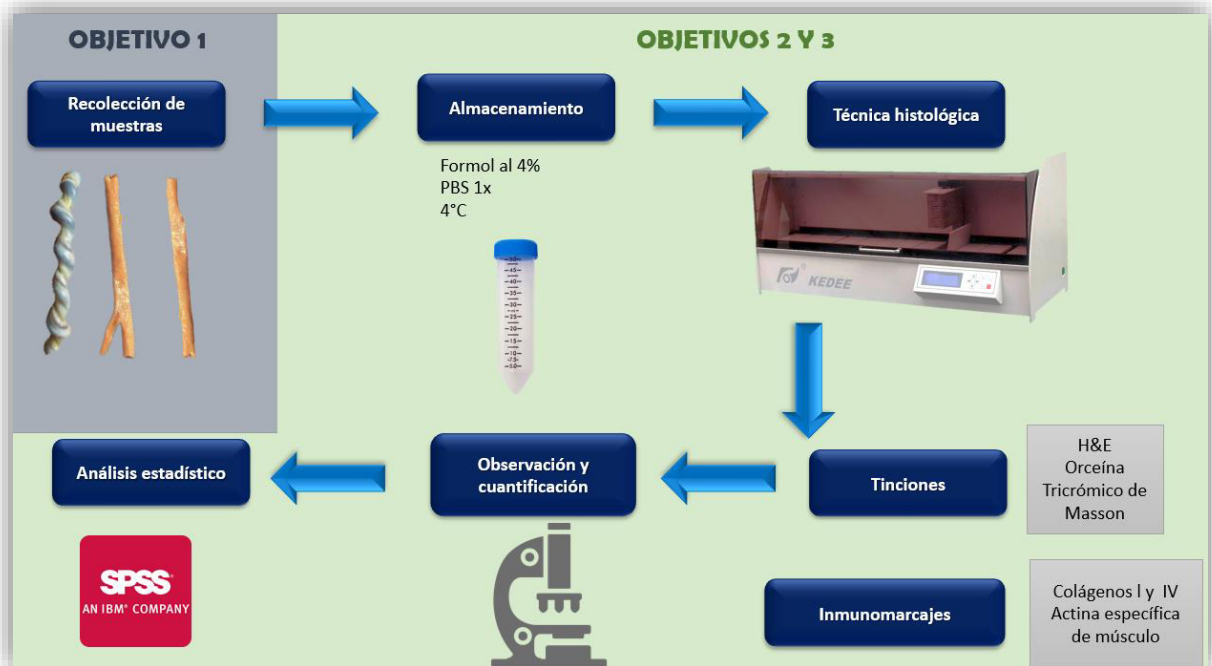
### 2.1.4 Material de técnicas morfológicas

Se utilizó estuche de disección, campos quirúrgicos, hojas de bisturí, agujas, cáñamo, guantes de nitrilo, coplin de vidrio, matraces de 200 mL, puntillas para pipetas, tubos eppendorf de 1.5 mL estériles, falcon de 50 mL, agua destilada

### 2.1.5 Equipo

- Foto Microscopio Omax con Cámara digital Omax 18 mp
- Microscopio de campo claro Carl Zeiss
- Histokinette Kedee®
- Microtomo RM2235 Leica
- Centro de Inclusión KD-BM Tissue Embedding Center Kedee®
- Placa de enfriamiento KD-BL COOLING PLATE Kedee®
- Baño de flotación KD-P Water Bath Kedee®
- Juego de pipetas calibradas de 10, 20, 200 y 1000 pipet lite Rainin
- Campana de flujo laminar

### 2.2 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



## 2.3 MÉTODOS

### 2.3.1 Obtención de la muestra

#### VASOS UMBILICALES:

- Previo a la obtención de la muestra, se abordó a la paciente a su llegada al área de admisión del Servicio de Tococirugía del Hospital Universitario o durante su estancia hospitalaria previa al parto o cesárea. Se le explicó, de manera verbal, en qué consistía el proyecto y el objetivo que tenía el recolectar las muestras de cordón umbilical; dejando claro que esto no le implicaría alguna intervención extra a ella ni al recién nacido, y que la muestra recabada solo sería utilizada con el fin antes mencionado y solo se almacenaría por el periodo de tiempo que dure el estudio. Se hizo uso de un vocabulario claro, evitando utilizar tecnicismos o términos que pudieran confundir a la paciente. Se le hizo énfasis en la libertad que tenía para elegir el participar o no en el proyecto, sin que esto influya en la atención que le sería brindada durante su estancia hospitalaria. En caso de que la paciente no fuera capaz de otorgar el consentimiento, este podría ser otorgado por su pareja sentimental o algún familiar directo.
- Se obtuvieron muestras de cordones umbilicales de pacientes embarazadas diagnosticadas con PE, se cortó desde su punto de inserción en la placenta un segmento de aproximadamente de 3 cm de longitud.



- Se almacenaron en formol al 4% en PBS 1x, para su análisis histológico, en el laboratorio de investigación en anatomía del Departamento de Anatomía Humana.

#### VENA SAFENA MAYOR:

- Se obtuvieron muestras de vena safena interna, la cual se obtuvo por medio de disección instrumentada de la región sural medial. Se cortó un segmento por debajo del cóndilo medial de la tibia, de 3 cm y se colocó en formol al 4% en PBS 1x.

#### ARTERIA CORONARIA DESCENDENTE ANTERIOR:

- Por medio de disección instrumentada se retiró el pericardio del corazón, se limpió la grasa epicárdica y se disecó la ACDA del tabique interventricular. Una vez separada la arteria se cortó desde su inicio en el tabique hasta su punto de terminación en el vértice del corazón. Se almacenó el extremo proximal de cada arteria en formol al 4% en PBS 1x.

### **2.3.2 Técnica histológica de inclusión con parafina**

Cada vaso sanguíneo almacenado en formol al 4%, fue procesado por la técnica histológica convencional (para mayor detalle de cómo se lleva a cabo este proceso consultar del apéndice A) hasta su inclusión en bloques de parafina.

Posteriormente se realizaron cortes de 4µm con ayuda del micrótopo para llevar a cabo el análisis.

### **2.3.3 Análisis descriptivo**

#### **2.3.3.1 Hematoxilina y eosina (H y E), tricrómico de Masson y orceína**

Se realizó H y E para revisión general de la estructura del tejido, Tricrómico de Masson para analizar el colágeno y el tejido muscular, y Orceína para las fibras elásticas.

Con ayuda de un microscopio Carl Zeiss Axio Scope.A1 se observó la forma de la luz del vaso, de la túnica íntima se vio la integridad del endotelio, la presencia de tejido subendotelial así como de la lámina elástica interna. De la túnica media se observó la organización de las fibras musculares lisas, las fibras elásticas y colágeno.

### **2.3.4 Análisis cuantitativo**

#### **2.3.4.1 Orceína, tricrómico de Masson modificado e inmunohistoquímica**

Para los inmunomarcajes se utilizaron anticuerpos primarios: anti colágeno I (Anti-Collagen IV antibody ab6586), anticuerpo primario anti colágeno IV (Anti-Collagen I antibody [COL-1] ab90395), Anticuerpo primario anti actina musculo específica (Actin muscle Monoclonal Antibody (HHF35), eBioscience™) y el kit de detección ( Mouse and Rabbit Specific HRP/DAB ab64264) de abcam.

Se utilizó la tinción con orceína para la cuantificación de la elastina.

##### **2.3.4.1.1 Morfometría**

- **Diámetro de la luz**

Para el análisis morfométrico del diámetro de la luz del vaso:

- Con ayuda del programa image J se midió el perímetro de la luz del vaso y con la fórmula del círculo, se calculó el diámetro de la luz.

$$\text{Diametro} = X / 3.14$$

Donde X es el perímetro de la luz del vaso.

- **Grosor de la pared**

- **Túnica íntima**

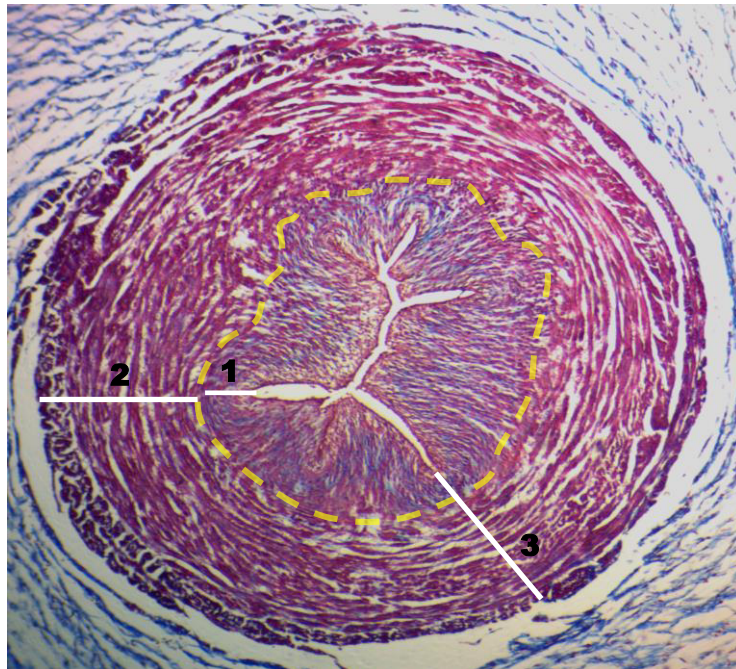
Se tomaron 4 fotografías de la túnica íntima, tomando en cuenta aquellas regiones donde se veía más uniforme el tejido. Se trazó una línea transversal tomando como referencia los núcleos de las células, desde el endotelio hasta la lámina elástica interna (Ver figura 1). Repitiendo el proceso cuatro veces, se saca el promedio de las cuatro mediciones.

- **Túnica media**

Se tomaron 4 fotografías de la túnica media, tomando en cuenta aquellas regiones donde se veía más uniforme el tejido. Se trazó una línea transversal tomando como referencia los núcleos de las fibras musculares, desde la lámina elástica interna hasta la lámina elástica externa o la adventicia, en el caso de que no se vea o no tenga (Ver figura 1). Repitiendo el proceso cuatro veces, se saca el promedio de las cuatro mediciones.

- **Grosor total íntima-media**

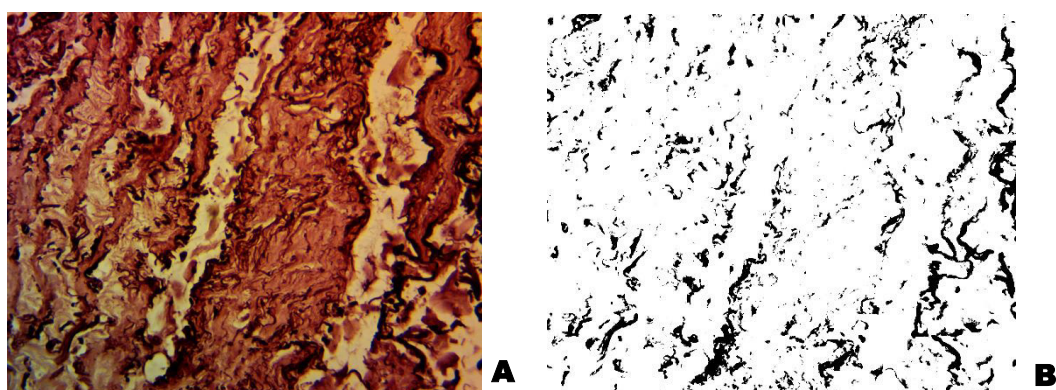
Se suman los promedios de las dos mediciones anteriores para sacar el promedio de grosor total de la túnica íntima y la túnica media de la pared de los vasos sanguíneos (Ver figura 1).



**Figura 1. Representación de la morfometría de las tunicas de la pared vascular. 1 es grosor de la túnica íntima, 2 es grosor de la túnica media, y 3 es grosor total íntima-media.**

- **Cuantificación de colágeno total, colágeno i, colágeno iv y actina específica de músculo.**

De los cortes que fueron teñidos con la técnica de tricrómico de Masson modificado y orceína, y de las fueron marcadas con el anticuerpo para actina específica de músculo liso se tomaron 8 fotografías de campos al azar de la túnica íntima y otros ocho de la túnica media. Con ayuda del programa Image J se cuantificaron mediante densitometría para sacar los promedios.



**Figura 2. Representación de cuantificación de elastina. A.** Fotografía original de la túnica íntima de una Vena safena teñida con Orceína. **B.** Fotografía A, en el programa image J para ser cuantificada.

### 2.3.5 Análisis estadístico

Se realizó el cálculo del tamaño de muestra con base a estadísticas nacionales de preeclampsia. Utilizando la fórmula donde se conoce el tamaño de la población:

$$n = \frac{N \times Z_a^2 \times p \times q}{d^2 \times (N - 1) + Z_a^2 \times p \times q}$$

En donde, N = tamaño de la población Z = nivel de confianza, P = probabilidad de éxito, o proporción esperada Q = probabilidad de fracaso D = precisión (Error máximo admisible en términos de proporción).

Se calcularán medidas de tendencia central y dispersión para variables numéricas con frecuencias y porcentajes. Tomando en cuenta los vasos (arteria umbilical, vena umbilical, ambas con control y PE; vena safena, arteria coronaria descendente anterior), como variable categórica. Tomando el diámetro de la luz, grosores de la túnica íntima, media y pared como variables cuantitativas así como el colágeno, la elastina, y el músculo liso.

Se realizará el test de Kolmogorov-Smirnov para poner a prueba la distribución de las variables cuantitativas y decidir si se utilizarán pruebas comparativas paramétricas o no paramétricas para comparar medias en los 6 grupos (por ej. ANOVA o Kruskal Wallis).

Un valor de  $p < .05$  se tomará como estadísticamente significativo. Se utilizará el paquete estadístico SPSS (IBM, Armonk, NY, USA) versión 24 para Windows 7.

### **2.3.6 Consideraciones éticas**

Dado que no se hará ninguna intervención a las pacientes para obtener los cordones umbilicales y el resto de los tejidos se obtendrán de pacientes no vivos y el material biológico con el que se trabajará son considerados tejidos de desecho no es necesario obtener consentimiento informado firmado por las pacientes.

El presente estudio será sometido al comité de ética para su aprobación y no se tomarán datos.



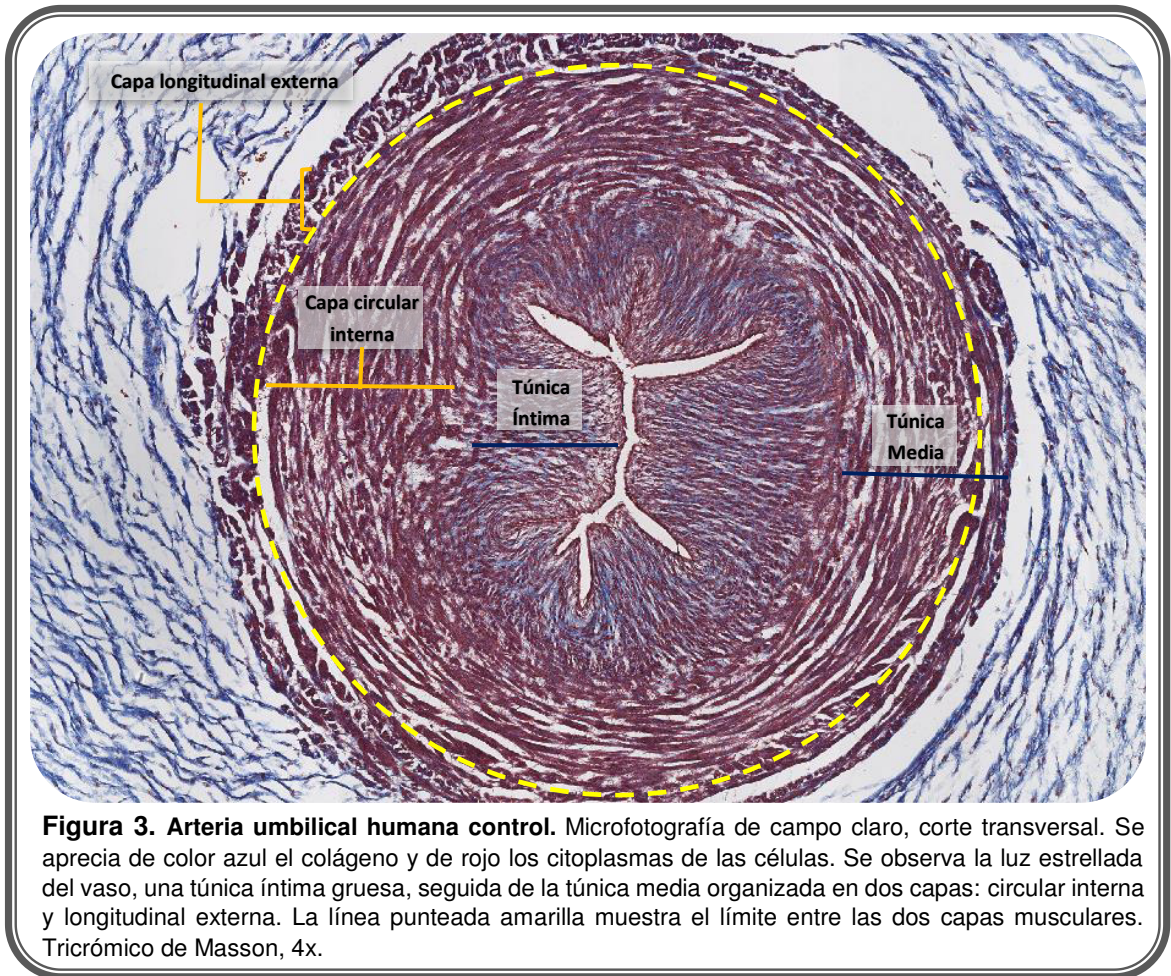
## CAPÍTULO 3.

### RESULTADOS

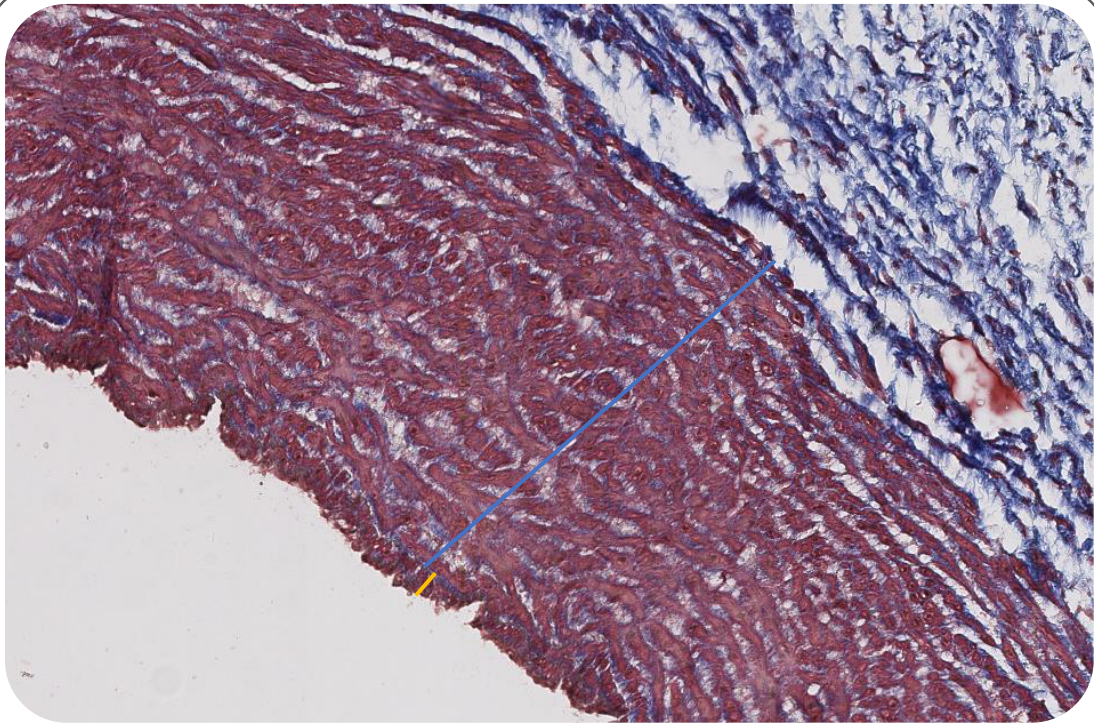
#### 3. RESULTADOS

##### 3.1 Morfología normal de los vasos umbilicales humanos

En nuestro estudio, al analizar la AU humana sana cortada de manera transversal y teñida con la técnica de tricrómico de Masson, se observó que está compuesta por una túnica íntima revestida por un endotelio, por debajo de este se encuentra el tejido subendotelial, el cual se observa engrosado. De color azul se tiñeron las fibras de colágeno y de rojo vemos los citoplasmas celulares. Seguido de este se ve la túnica media, compuesta principalmente por fibras musculares lisas organizadas en dos capas: una circular interna y una longitudinal externa (fig. 3).

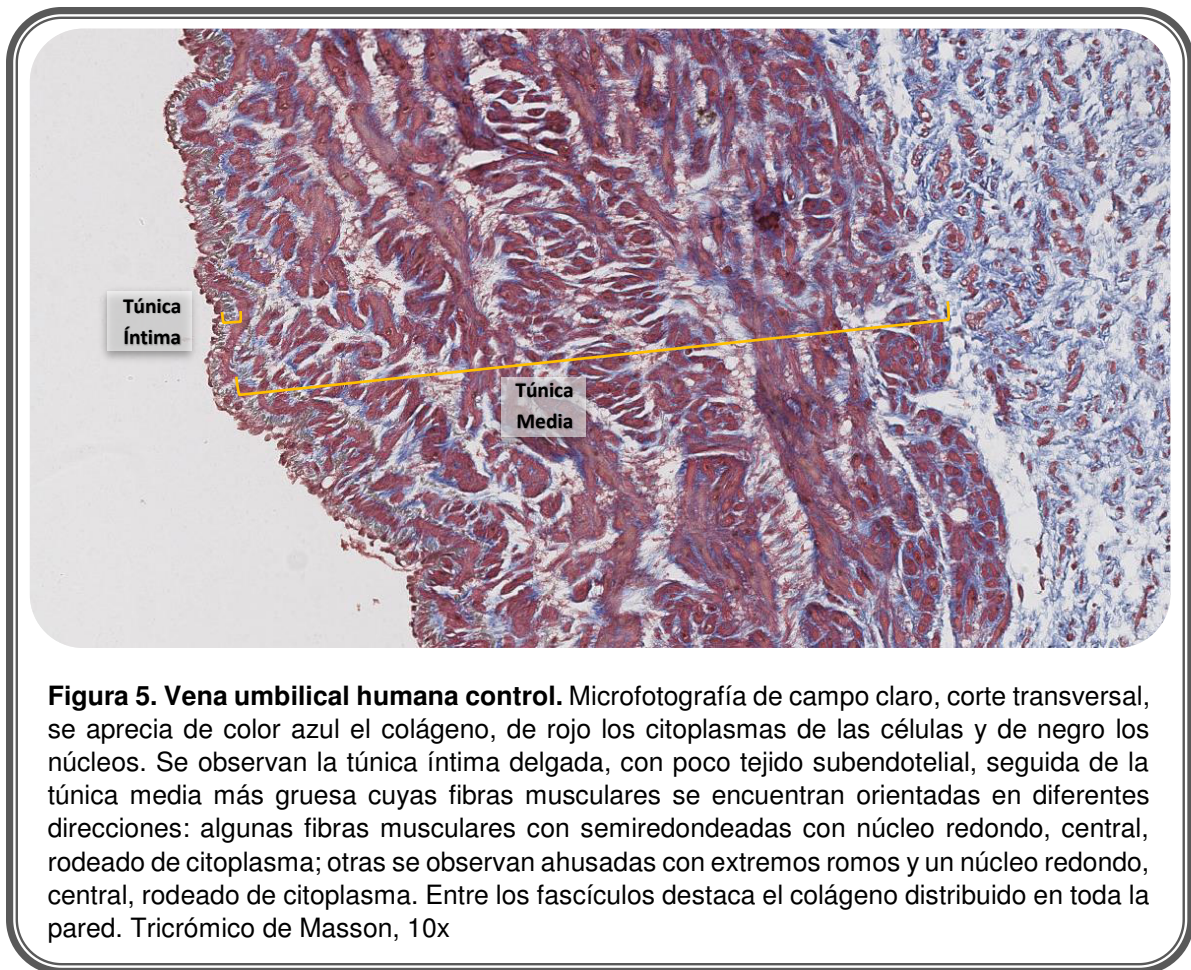


En cuanto a la HUV sana, en corte transversal y teñida con tricrómico de Masson, se observa que está formada por una túnica íntima delgada con su endotelio y tejido subendotelial escaso. La túnica media está formada principalmente por láminas de fibras musculares lisas orientadas en sentido circular (teñidas de color rojo), entre las cuales podemos notar de color azul el colágeno (fig. 4). En otras regiones, la túnica media muestra un arreglo diferente: fibras musculares dispuestas de manera longitudinal, y otras capas circulares (fig. 5).



**Figura 4. Vena umbilical humana control.** Microfotografía de campo claro, corte transversal. Se aprecia de color azul el colágeno, de rojo los citoplasmas de las células y de negro los núcleos. Se observa la túnica íntima delgada, con poco tejido subendotelial (línea amarilla), seguida de la túnica media más gruesa y organizada en láminas de fibras musculares (línea azul). Tricrómico de Masson. 10x

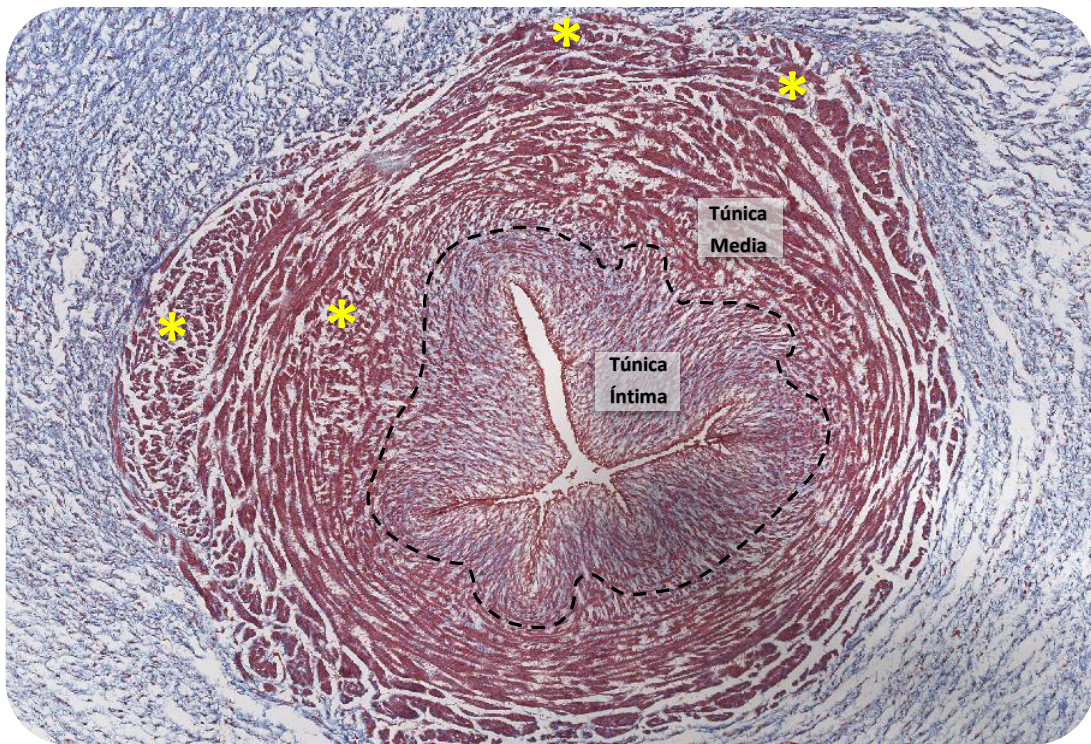




**Figura 5. Vena umbilical humana control.** Microfotografía de campo claro, corte transversal, se aprecia de color azul el colágeno, de rojo los citoplasmas de las células y de negro los núcleos. Se observan la túnica íntima delgada, con poco tejido subendotelial, seguida de la túnica media más gruesa cuyas fibras musculares se encuentran orientadas en diferentes direcciones: algunas fibras musculares con semiredondeadas con núcleo redondo, central, rodeado de citoplasma; otras se observan ahusadas con extremos romos y un núcleo redondo, central, rodeado de citoplasma. Entre los fascículos destaca el colágeno distribuido en toda la pared. Tricrómico de Masson, 10x

### 3.2 La PE induce cambios estructurales en la pared de los vasos umbilicales.

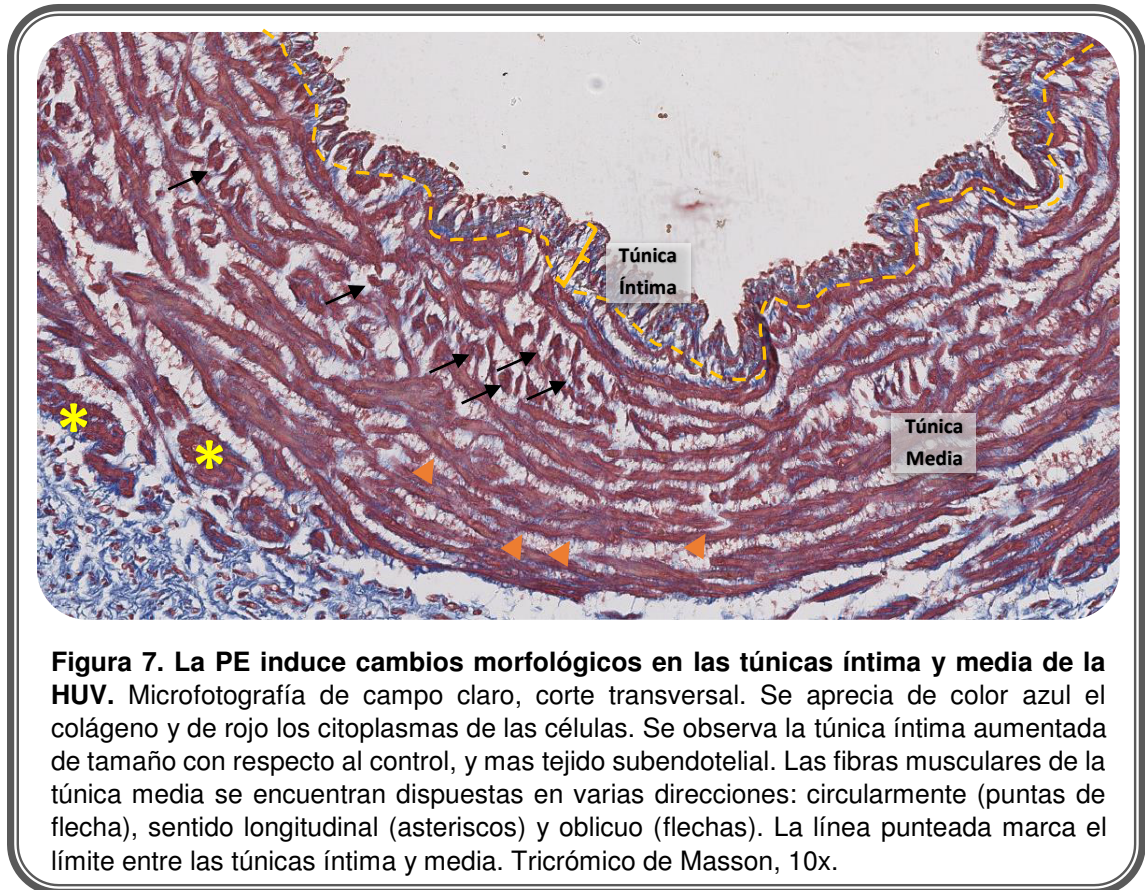
En comparación con los hallazgos de las muestras control, se observó que la PE induce cambios estructurales en las paredes de las AU de las una pacientes, principalmente en la túnica media. La túnica íntima se observó revestida por endotelio, seguida del tejido subendotelial el cual es abundante, donde apreciamos de color azul fibras de colágeno principalmente, y de rojo los citoplasmas de algunas células. Como se mencionó, en la túnica media se encontraron fibras musculares lisas orientadas en varias direcciones exhibiendo un desarreglo focalizado en varias regiones de esta capa. En estas regiones las fibras musculares son pequeñas (fig. 6).



**Figura 6. La PE induce cambios estructurales en la túnica media de las AU.** Microfotografía de campo claro, corte transversal. Se aprecia de color azul el colágeno y de rojo los citoplasmas de las células. El vaso muestra la luz estrellada, túnica íntima gruesa, seguida de la túnica media con regiones en las cuales las fibras musculares se observan más pequeñas y orientadas en diferentes direcciones (asteriscos). La línea punteada señala el límite entre las túnicas media e íntima. Tricrómico de Masson, 4x

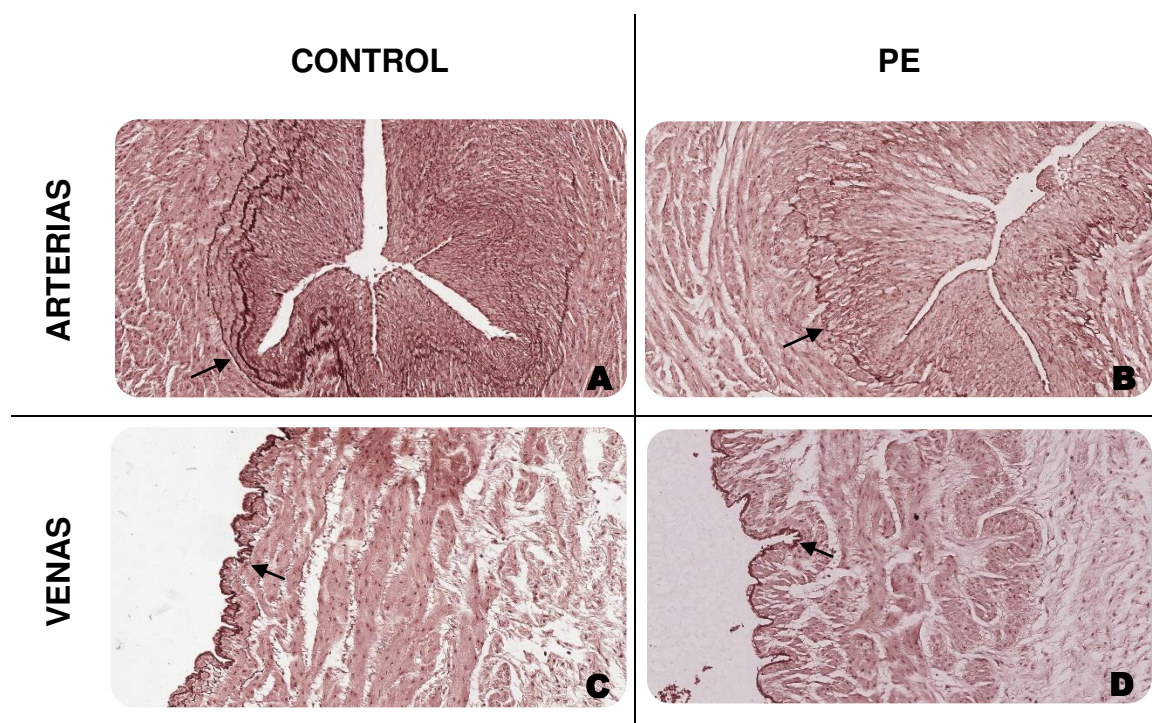


De la misma manera, en las muestras de HUV de las pacientes con PE, se observó que la túnica íntima presenta mayor grosor comparada con el control, y las fibras musculares de la túnica media están orientadas en diferentes direcciones: oblicuas, circulares y longitudinales (fig. 7).



### 3.3 La PE no induce cambios en las fibras elásticas de la pared de los vasos umbilicales sanos y de pacientes

Con la tinción con Orceína, observamos la lámina elástica interna que indica el límite entre las tunicas íntima y media, sin cambios morfológicos tanto en arterias como en venas de los controles y los vasos umbilicales de pacientes con PE. En el caso las arterias, ésta se encuentra organizada en 2 o 3 láminas de fibras elásticas, y en las venas se encuentra formada por una única lámina de fibras (fig. 8).

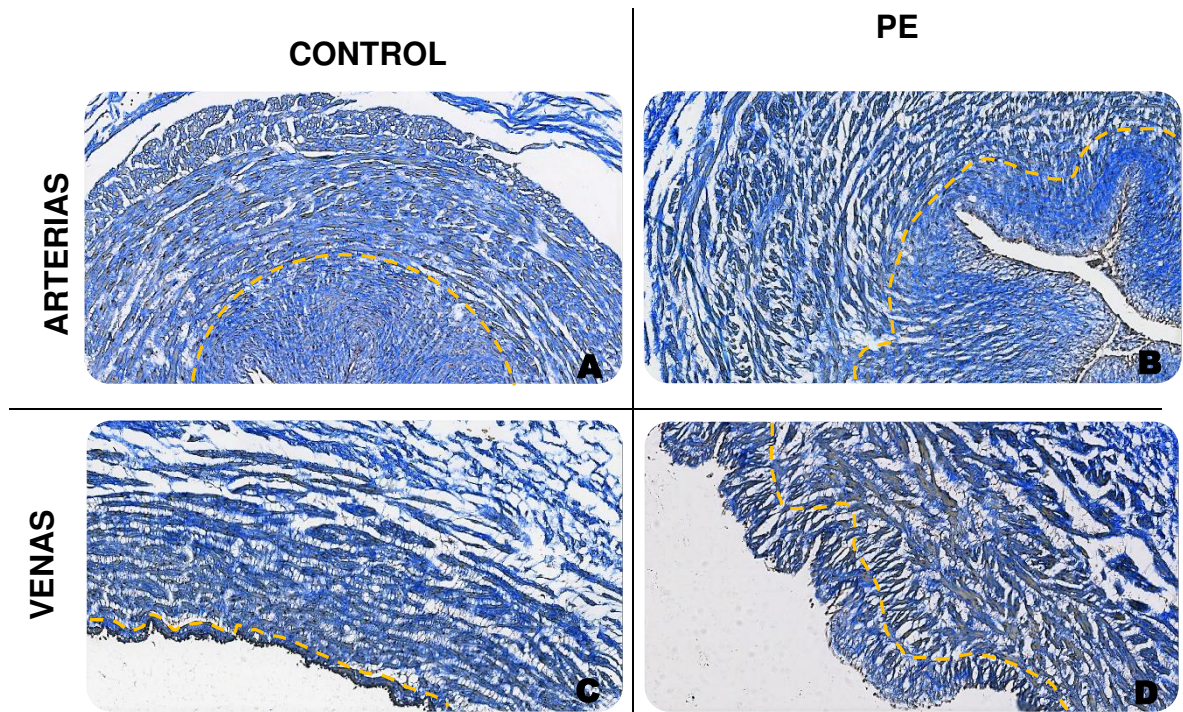


**Figura 8. La PE no induce cambios en las fibras elásticas de la pared de los vasos umbilicales sanos y de pacientes.** Microfotografías de campo claro. **A)** AU sana. **B)** AU de paciente con PE. **C)** HUV sana. **D)** vena umbilical de paciente con PE. En ellas se aprecian la organización normal de la lámina elástica interna (flechas). Orceína, 10x



### 3.4 PE no induce cambios en el colágeno de las tunicas de los vasos umbilicales

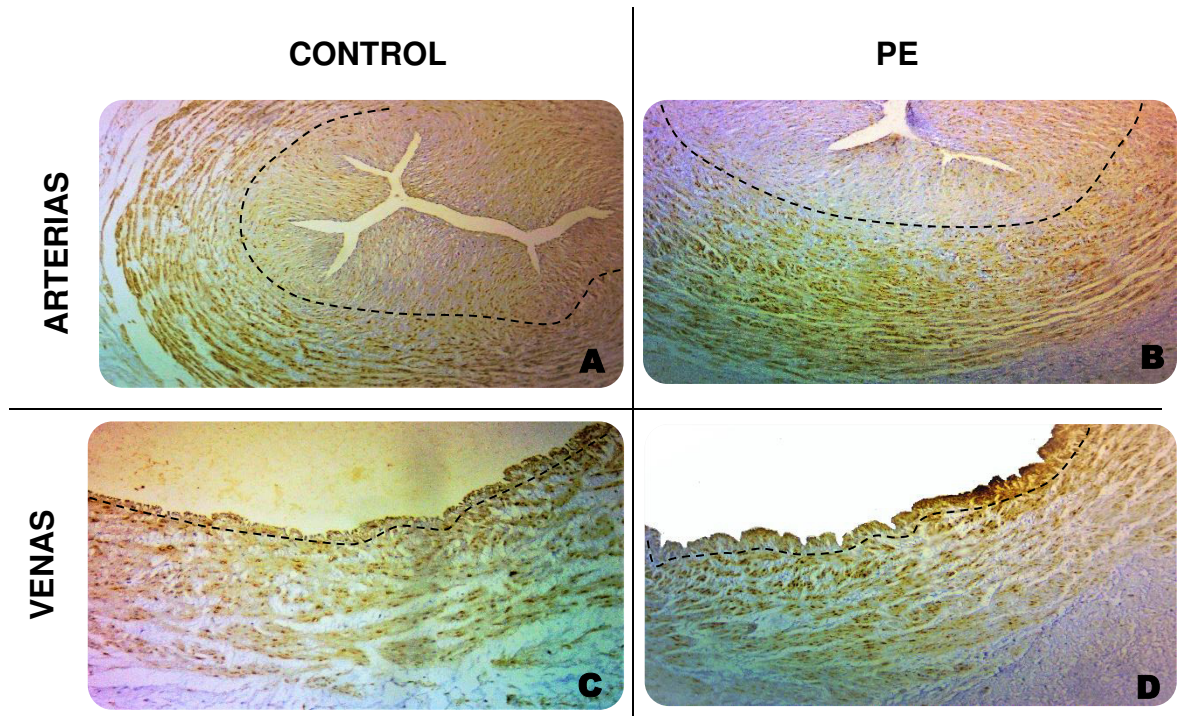
Con la técnica de tricrómico de Masson modificado, se tiñeron selectivamente las fibras de colágeno de color azul y los núcleos de las células en negro. Podemos ver que el colágeno se encuentra presente de manera uniforme en toda la pared de los vasos umbilicales sin cambios morfológicos (fig. 9).



**Figura 9 PE no induce cambios en el colágeno de las tunicas de los vasos umbilicales.** Microfotografía de campo claro. **A)** AU sana. **B)** AU de paciente con PE. **C)** HUV sana. **D)** HUV de una paciente con PE. En todas las imágenes se observan las fibras de colágeno teñidas de color azul. La línea punteada amarilla marca el límite entre las tunicas íntima y media. Tricrómico de Masson modificado, 10x.

### 3.5 La PE induce disminución del colágeno tipo I en la túnica íntima de la AU.

Con la técnica inmunohistoquímica utilizando un anticuerpo anti-colágeno I. De color café se observa la positividad para este anticuerpo en toda la pared de los vasos umbilicales. En la túnica íntima de la AU control se aprecia mayor positividad con respecto a la arteria de paciente con PE. En cuanto a las venas, se observa señal positiva en toda la pared vascular distribuida uniformemente sin observar cambios en cuanto a la positividad (fig. 10).

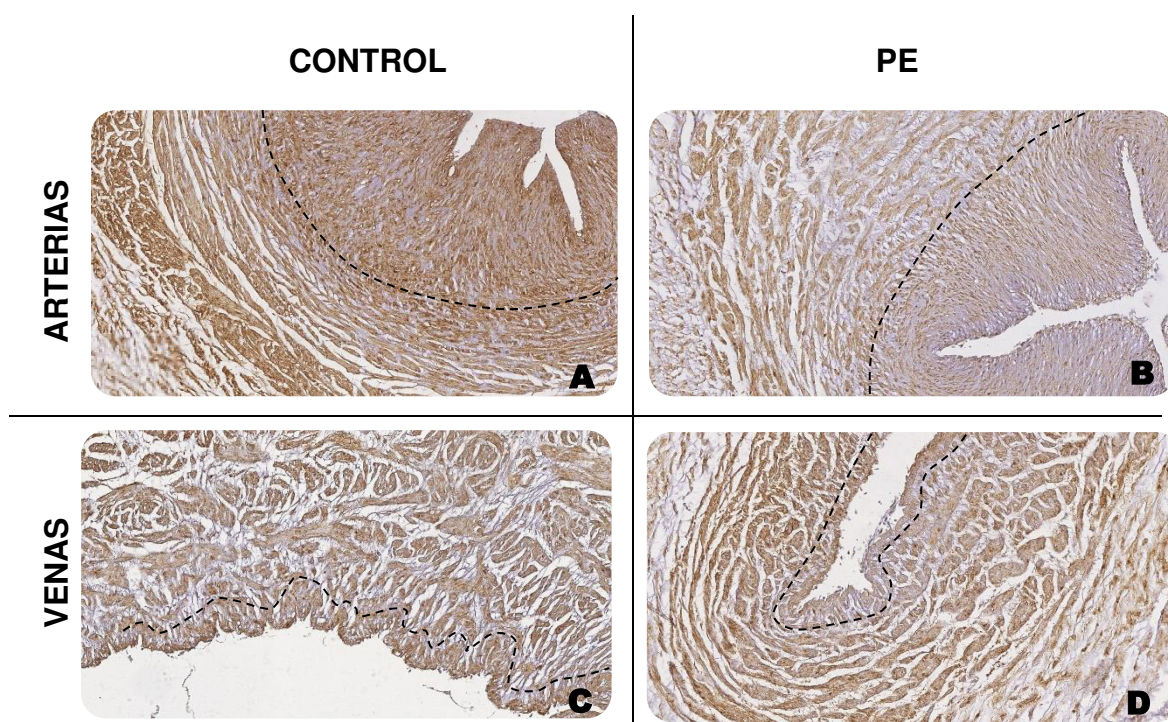


**Figura 10. La PE induce la disminución de colágeno tipo I en la túnica íntima de la AU.** Microfotografía de campo claro. **A)** AU sana. **B)** AU de paciente con PE. **C)** HUV sana. **D)** HUV de una paciente con PE. Se observa menor positividad en la pared de la AU con PE comparada con AU control. La línea punteada, marca el límite entre las túnicas íntima y media. Inmunohistoquímica, colágeno I, 10x .



### 3.6 Disminución de colágeno tipo IV en la túnica íntima de los vasos umbilicales de pacientes con PE

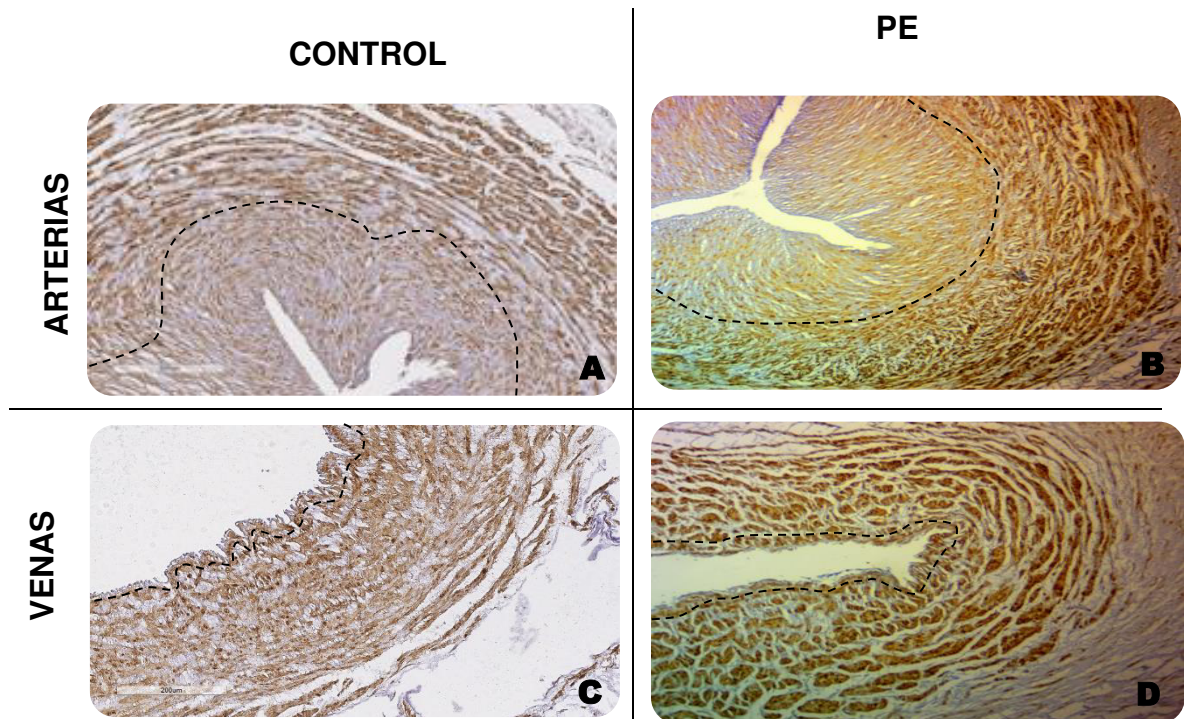
Con la técnica inmunohistoquímica, utilizando un anticuerpo anti-colágeno IV. De color café se observa la positividad a este anticuerpo en la pared de los vasos umbilicales, tanto de los controles como de las pacientes con PE, notándose una menor positividad en las túnicas íntimas de los vasos umbilicales con PE (fig.11).



**Figura 11. Disminución de colágeno tipo IV en la túnica íntima de los vasos umbilicales de pacientes con PE.** Microfotografía de campo claro. **A)** AU sana. **B)** AU de paciente con PE. **C)** HUV sana. **D)** HUV de una paciente con PE. Destaca la disminución a la positividad en la túnica íntima de los vasos umbilicales por PE. La línea punteada marca el límite entre las túnicas íntima y media. Inmunohistoquímica, anti-colágeno IV, 10x.

### 3.7 La PE no induce cambios en la positividad para actina específica de músculo liso en las tunicas de los vasos umbilicales

Utilizando un anticuerpo anti-actina específica de músculo liso en la técnica inmunohistoquímica, se observa la positividad distribuida uniformemente y sin cambios para este anticuerpo en toda la pared los vasos umbilicales, tanto de los controles como de las pacientes con PE (fig.12).



**Figura 12. La PE no induce cambios en la positividad para actina específica de músculo liso en las tunicas de los vasos umbilicales.** Microfotografía de campo claro. **A)** AU sana. **B)** AU de paciente con PE. **C)** HUV sana. **D)** HUV de paciente con PE. No se observan cambios en la positividad. La línea punteada, marca el límite entre las tunicas íntima y media. Inmunohistoquímica, anti-actina específica de músculo liso, 10x .

### 3.8 Cambios en el grosor de la pared y diámetro de los vasos umbilicales sanos y de pacientes con PE

Para el análisis estadístico de las variables grosor de la túnica íntima, túnica media, íntima-media se realizó una prueba de U de Mann Whitney, entre los grupos control y PE. Tomándose como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$ . (tablas 1 y 2).

Tabla 1. Análisis comparativo del entre AU control y la AU de paciente con PE

	AU CONTROL	AU PE	VALOR DE P
<b>GROSOR ÍNTIMA (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	168.37 (119.37 - 191.09)	157.69 (136.95 - 178.76)	0.564
<b>GROSOR MEDIA (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	347.13 (322.95 - 457.10)	346.85 (327.86 - 380.09)	0.294
<b>GROSOR ÍNTIMA-MEDIA (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	437.65 (387.16 - 521.18)	514.71 (457.46 - 566.51)	0.067

\*Diferencia estadísticamente significativa

Tabla 2. Análisis comparativo del entre HUV control y la HUV de paciente con PE

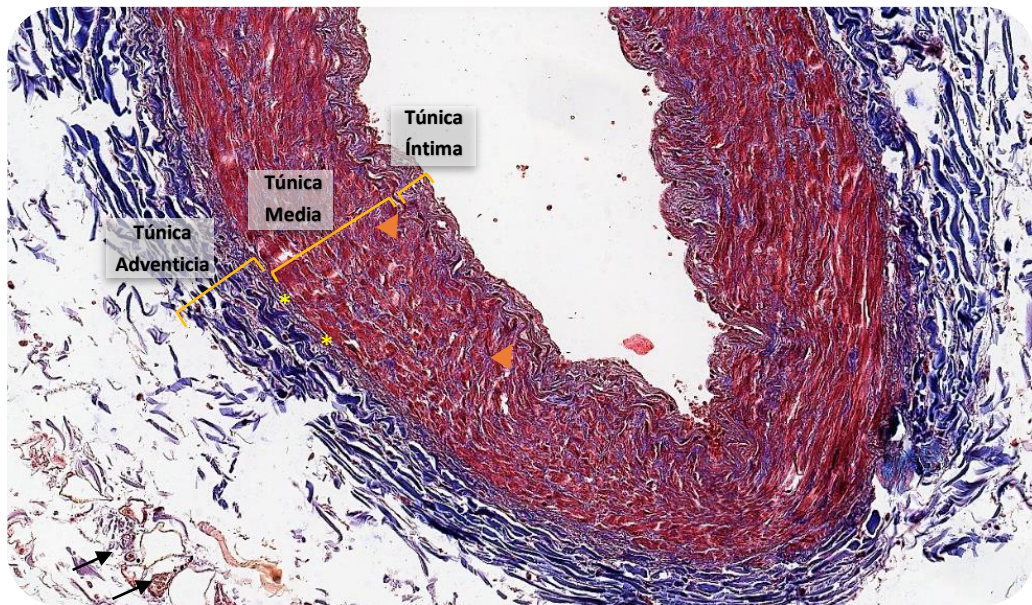
	HUV CONTROL	HUV PE	VALOR DE P
<b>GROSOR ÍNTIMA (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	36.75 (29.69 - 45.34)	40.48 (29.53 - 51.07)	0.626
<b>GROSOR MEDIA (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	462.65 (376.09 - 571.94)	445.89 (402.22 - 497.64)	0.605
<b>GROSOR ÍNTIMA-MEDIA (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	494.66 (410.40 - 610.47)	483.88 (435.38 - 552.61)	0.712

\*Diferencia estadísticamente significativa



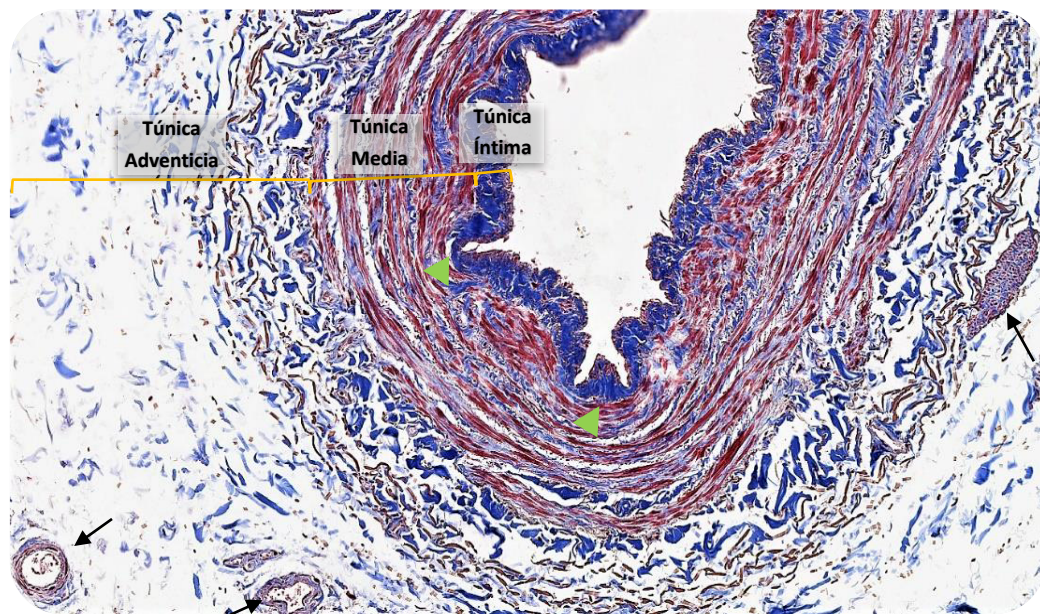
### 3.9 Morfología normal de la arteria coronaria descendente anterior y vena safena interna humanas

También analizamos la pared de la AC con el tricrómico de Masson, y observamos que está compuesta por 3 capas: la túnica íntima revestida de endotelio y por debajo el tejido subendotelial de tejido conectivo, seguido de la lámina elástica interna. La túnica media, muy gruesa, está compuesta principalmente por fibras musculares lisas dispuestas de manera circular teñidas de color rojo, y entre estas vemos fibras de colágeno en azul. Al final de esta capa se observa la lámina elástica externa seguida de la túnica adventicia, formada por tejido conjuntivo laxo con vasos sanguíneos (*vasa vasorum*) y nervios también llamados *nervivascularis* (fig. 13).



**Figura 13. Morfología de la AC descendente anterior humana.** Microfotografía de campo claro, corte transversal. Se aprecia de color azul el colágeno y de rojo los citoplasmas de las células. Túnica íntima con tejido subendotelial y lámina elástica interna (puntas de flechas). Túnica media, la más gruesa de las tres capas, compuesta principalmente por fibras musculares lisas, seguida de la lámina elástica externa (asteriscos). Túnica adventicia compuesta de tejido conjuntivo con capilares y nervios (flechas). Tricrómico de Masson, 10x.

Se analizó la SV, en la que se observó la túnica íntima delgada delimitada por la lámina elástica interna, con endotelio y tejido conjuntivo laxo denominado tejido subendotelial con abundante colágeno. La túnica media está compuesta principalmente por fibras musculares lisas orientadas circularmente; entre las que se observan fibras de colágeno organizadas en láminas. Por último se vio la túnica adventicia, formada principalmente de tejido conjuntivo laxo con *vasa vasorum* y *nervivascularis* (fig. 14).

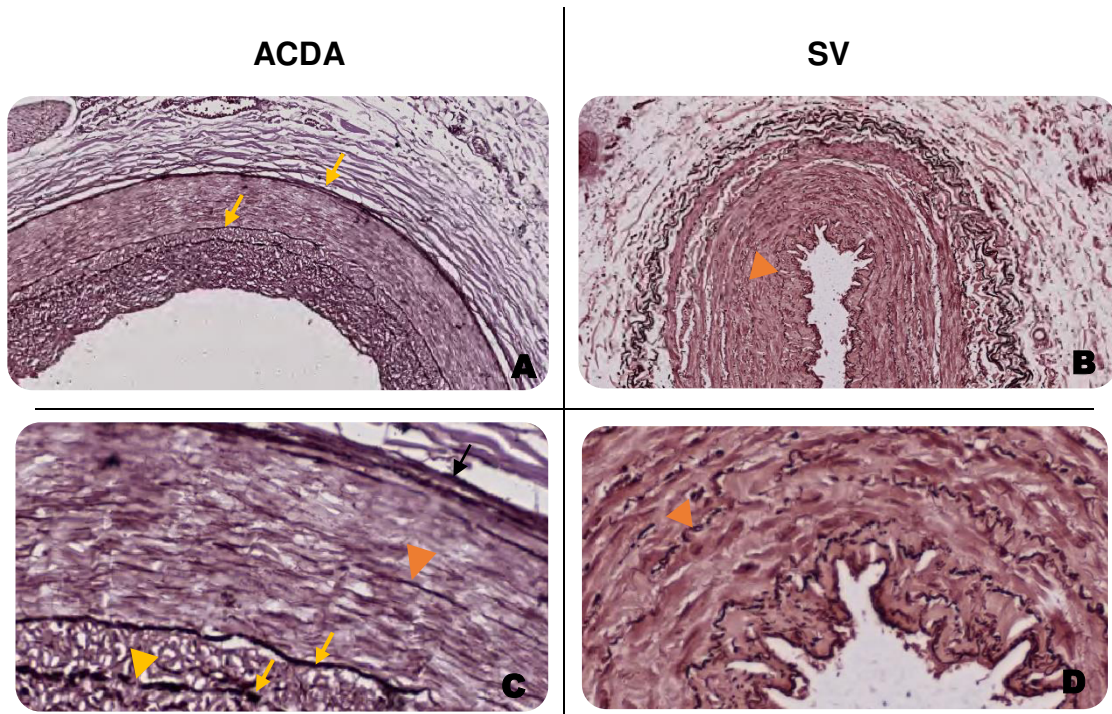


**Figura 14. Morfología de la SV.** Microfotografía de campo claro, corte transversal. En la túnica íntima destaca el colágeno en la capa subendotelial, delimitada por la lámina elástica interna (puntas de flecha). La túnica media con fibras musculares lisas, orientadas circularmente. Túnica adventicia formada por tejido conjuntivo laxo con capilares y nervios (flechas). Tricrómico de Masson, 10x.



### 3.10 Las fibras elásticas predominan en la túnica media la ACDA y la SV

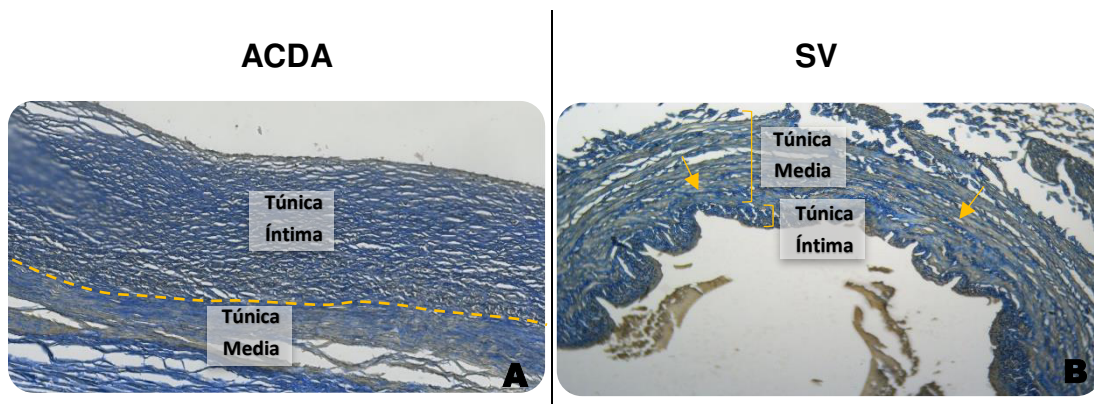
Con la tinción de Orceína, se evidenciaron las fibras elásticas en la pared de las AC. Limitando las túnicas íntima y media se observaron las láminas elásticas interna y externa, respectivamente. La lámina elástica interna está conformada por una gruesa lámina de fibras elásticas, la cual se ve duplicada y fragmentada en diferentes lugares. En la SV se aprecia una gruesa lámina de fibras elásticas por debajo del endotelio. En la túnica media de ambos vasos observamos finas láminas discontinuas de elastina (fig. 15).



**Figura 15. Las fibras elásticas predominan en la túnica media de la ACDA y la SV.** Microfotografías de campo claro. **A)** ACDA. **B)** SV. **C)** y **D)** corresponden a los vasos antes mencionados, pero vistos con mayor aumento. En ellas se aprecian las láminas elásticas interna y externa (flechas), lámina elástica interna fragmentada (punta de flecha amarilla) y láminas de elastina delgadas (puntas de flechas naranjas). Destacan su predominio en la túnica media. Orceína, 10x (A y B), 40x (C y D).

### 3.11 El colágeno forma láminas bien definidas entre las fibras musculares de la túnica media en la SV comparada con la ACDA

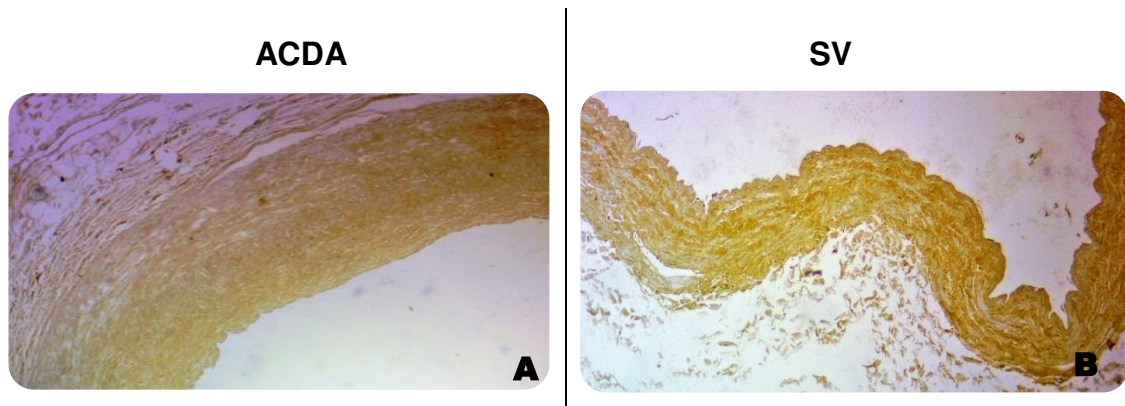
Con la técnica de tricrómico de Masson modificado, se tiñó de color azul las fibras de colágeno y de negro los núcleos de las células. Se observó el colágeno en toda la pared vascular; notando su organización en láminas entre las fibras musculares de la túnica media de la SV (fig. 16).



**Figura 16. El colágeno forma láminas bien definidas entre las fibras musculares de la túnica media en la SV comparada con la ACDA.** Microfotografías de campo claro. **A)** ACDA humana. **B)** SV humana. Se aprecian de color azul las fibras de colágeno y de un color más pálido las células. Se observa mejor organización de las fibras en la SV. Tricrómico de Masson modificado, 10x.

### 3.12 El colágeno tipo I se encuentra presente en la pared de la ACDA y la SV

Con la técnica inmunohistoquímica, utilizando un anticuerpo anti-colágeno I, se observa la positividad para este anticuerpo en toda la pared de los vasos, y distribuida de manera uniforme tanto en la túnica íntima como en la media (fig. 17).

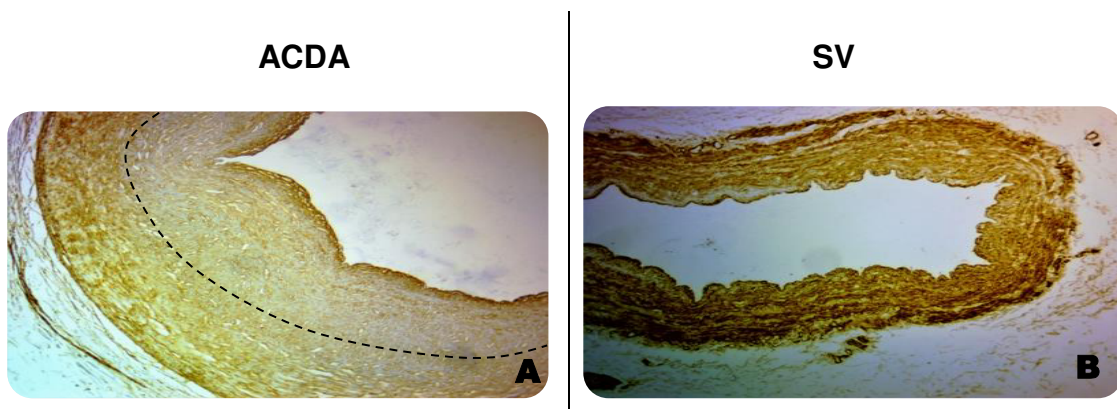


**Figura 17. El colágeno tipo I se encuentra presente en la pared de la ACDA y la SV.** Microfotografías de campo claro. **A)** ACDA humana. **B)** SV humana. Se aprecia de color café la positividad para este anticuerpo en toda la pared vascular. Inmunohistoquímica, anti-colágeno tipo I, 10x.



### 3.13 Las fibras de colágeno tipo IV predominan en la túnica media de la ACDA

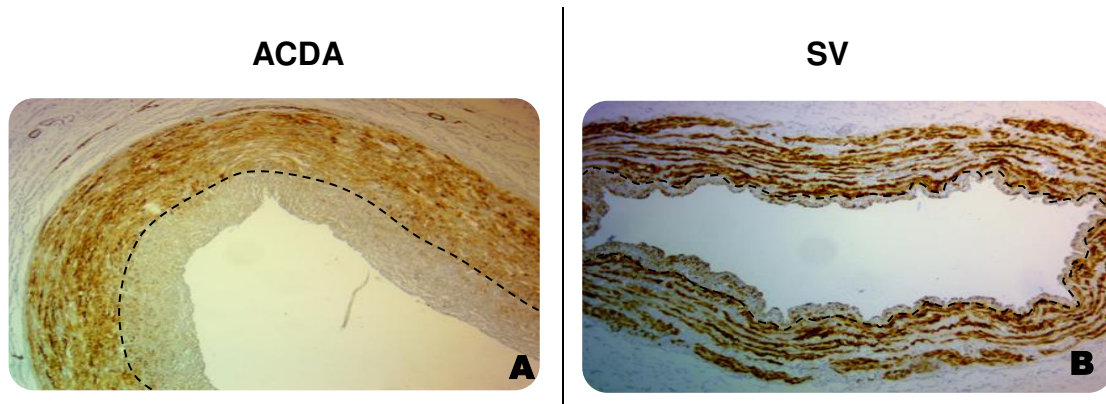
Utilizando un anticuerpo primario anti-colágeno IV, mediante la técnica inmunohistoquímica se observa la positividad en toda la pared de los vasos. En la AC se aprecia mayor positividad en la túnica media que en la túnica íntima, en cambio, en la VS vemos señal positiva en toda la pared vascular (fig. 18).



**Figura 18. Las fibras de colágeno tipo IV predominan en la túnica media de la ACDA.** Microfotografías de campo claro. **A)** ACDA humana. **B)** SV humana. Observe mayor positividad en la túnica media de la SV. La línea punteada muestra el límite entre las túnicas íntima y media. Inmunohistoquímica, anti-colágeno IV, 10x.

### 3.14 La positividad para actina específica de músculo liso predomina en la túnica media de la ACDA y la SV

Al utilizar un anticuerpo anti-actina específica de músculo liso en la técnica inmunohistoquímica, se detectó la positividad en toda la pared de los vasos, la cual predomina en la túnica media. Se observa menor intensidad en la túnica íntima (fig. 19).



**Figura 19. La positividad para actina específica de músculo liso predomina en la túnica media de la ACDA y la SV.** Microfotografías de campo claro. **A)** ACDA. **B)** SV. Destaca mayor positividad en la túnica media de ambos vasos. La línea punteada muestra el límite entre las túnicas íntima y media. Inmunohistoquímica, ant-actina específica de músculo liso, 10x.

### 3.15 Cambios estructurales de la pared vascular de los vasos umbilicales normales y de las pacientes con PE, la ACDA y la SV

Se realizó una prueba de Kruskal-Wallis con corrección post-hoc de Dunnett para comprar las variables: grosor de la túnica íntima, grosor de la túnica media, grosor íntima-media de los vasos estudiados entre sí (Tablas 3 y 4). Se observa diferencia estadísticamente significativa, lo que sugiere que todos los vasos son diferentes en cuanto a los grosores de la pared vascular.

Tabla 3. . Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre la AU control y de pacientes con PE, ACDA y SV

	AU CONTROL	AU PE	ACDA	SV	Valor de <i>P</i>
<b>Túnica Íntima (µm)</b>	168.37 (119.37 - 191.09)	157.69 (136.95 - 178.76)	158.5 (100.48 - 246.4)	19.42 (12.04 - 34.63)	<0.001*
<b>Túnica Media (µm)</b>	347.13 (322.95 - 457.10)	346.85 (327.86 - 380.09)	116.92 (90.52 - 164.12)	153.68 (133.7 - 227.47)	<0.001*
<b>Íntima-media (µm)</b>	437.65 (387.16 - 521.18)	514.71 (457.46 - 566.51)	279.79 (236.4 - 382.15)	177.39 (149.78 - 257.44)	<0.001*
<b>Diámetro de la luz (mm)</b>	0.05 (0.04 - 0.09)	157.69 (136.95 - 178.76)	0.08 (0.4 - 0.18)	6.06 (4.37 - 7.0)	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Tabla 4. Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre la HUV control y de paciente con PE, ACDA y SV

	HUV CONTROL	HUV PE	ACDA	SV	Valor de P
<b>Túnica Íntima (µm)</b>	36.75 (29.69 - 45.34)	40.48 (29.53 - 51.07)	158.5 (100.48 - 246.4)	19.42 (12.04 - 34.63)	<0.001*
<b>Túnica Media (µm)</b>	462.65 (376.09 - 571.94)	445.89 (402.22 - 497.64)	116.92 (90.52 - 164.12)	153.68 (133.7 - 227.47)	<0.001*
<b>Íntima-media (µm)</b>	494.66 (410.40 - 610.47)	483.88 (435.38 - 552.61)	279.79 (236.4 - 382.15)	177.39 (149.78 - 257.44)	<0.001*
<b>Diámetro de la luz (mm)</b>	0.07 (0.05 - 0.09)	0.07 (0.06 - 0.09)	0.08 (0.4 - 0.18)	6.06 (4.37 - 7.0)	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

### 3.16 Cambios estructurales de la pared vascular de los vasos umbilicales sanos, de las pacientes con PE, ACDA y SV.

Para el análisis estadístico de la variable íntima-media en grupos arteria de pacientes con PE y ACDA, se realizó la prueba T-student. Se asumen varianzas iguales, tomándose como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 5). Se observó que la AU de pacientes con PE tiene un grosor mayor que la ACDA.

Tabla 5. Análisis comparativo del grosor íntima-media entre AU de pacientes con PE y ACDA

	<b>AU PE</b> (MEDIA, DS)	<b>ACDA</b> (MEDIA, DS)	<i>VALOR DE P</i>
<b>ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	504.95 $\pm$ 92.69	303.54 $\pm$ 109.93	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de la variable íntima-media en grupos arteria control y ACDA, se realizó la prueba U de Mann Whitney. Se asumen varianzas iguales, tomándose como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 6). Se observa mayor grosor en la AU control que en la ACDA, con una diferencia significativa.

Tabla 6. Análisis comparativo del grosor íntima-media entre AU control y ACDA

	<b>AU CONTROL</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<b>ACDA</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<i>VALOR DE P</i>
<b>ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	437.65 (3817.16 - 521.18)	279.79 (236.4 - 382.1)	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de la variable íntima-media en grupos HUV de pacientes con PE y ACDA, se realizó la prueba T-student. Se asumen varianzas iguales. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 7). Destaca un mayor grosor en la HUV de pacientes con PE que en la ACDA, con una diferencia significativa.

Tabla 7. Análisis comparativo del grosor íntima-media entre HUV de paciente con PE y ACDA

	<b>HUV PE</b> (MEDIA, DS)	<b>ACDA</b> (MEDIA, DS)	<i>VALOR DE P</i>
<b>ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	504.95 $\pm$ 92.69	303.54 $\pm$ 109.93	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de la variable íntima-media en grupos HUV control y ACDA, se realizó prueba U de Mann Whitney. Se asumen varianzas iguales. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 8). Se nota mayor grosor en la HUV control que en la ACDA, con una diferencia significativa.

Tabla 8. Análisis comparativo del grosor íntima-media entre HUV control y ACDA

	<b>HUV CONTROL</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<b>ACDA</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<i>VALOR DE P</i>
<b>ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	437.65 (3817.16 - 521.18)	279.79 (236.4 - 382.1)	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de las variables diámetro de la luz, grosor íntima y grosor media en grupos AU de pacientes con PE y ACDA, se realizó prueba U de Mann Whitney. Se asumen varianzas iguales. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 9). Se observa diferencia significativa entre el grosor de la túnica media y el grosor íntima-media; con lo que se concluye que la pared de la AU de pacientes con PE es mayor que la ACDA a expensas de la túnica media.

Tabla 9. Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre AU de paciente con PE y ACDA

	<b>AU PE</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<b>ACDA</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<i>VALOR DE P</i>
<b>DIÁMETRO LUZ</b> (mm)	0.06 (0.05 - 0.09)	0.08 (0.04 - 0.18)	0.292
<b>GROSOR ÍNTIMA</b> ( $\mu\text{m}$ )	157.69 (136.95 - 178.76)	158.5 (100.48 - 246.4)	0.988
<b>GROSOR MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	346.85 (327.86 - 389.09)	116.92 (90.52 - 164.12)	<0.001*
<b>GROSOR ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	514.71 (457.46 - 566.51)	279.79 (236.4 - 381.15)	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de las variables diámetro de la luz, grosor íntima y grosor media en grupos AU control y ACDA, se realizó prueba U de Mann Whitney. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 10). Se observa diferencia significativa entre el grosor de la túnica media y el grosor íntima-media.

Tabla 10. Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre AU control y ACDA

	<b>AU CONTROL</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<b>ACDA</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<i>VALOR DE P</i>
<b>DIÁMETRO LUZ</b> (mm)	0.053 (0.04 - 0,09)	0.08 (0.04 - 0.18)	0.162
<b>GROSOR ÍNTIMA</b> ( $\mu\text{m}$ )	168.18 (119.37 - 191.09)	158.5 (100.48 - 246.4)	0.624
<b>GROSOR MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	347.13 (322.95 - 457.10)	116.92 (90.52 - 164.12)	$<0.001^*$
<b>GROSOR ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	437.65 (387.16 - 521.18)	279.79 (236.4 - 382.15)	$<0.001^*$

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de las variables diámetro de la luz, grosor íntima y grosor media en grupos HUV control y ACDA, se realizó prueba U de Mann Whitney. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$ . (Tabla 11). Se observa diferencia significativa en todas las variables, excepto en el diámetro de la luz.



Tabla 11. Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre HUV control y ACDA

	<b>HUV CONTROL</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<b>ACDA</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<i>VALOR DE P</i>
<b>DIÁMETRO LUZ</b> (mm)	0.07 (0.05 - 0.09)	0.08 (0.04 - 0.18)	0.457
<b>GROSOR ÍNTIMA</b> ( $\mu\text{m}$ )	36.75 (29.69 - 43.34)	158.5 (100.48 - 246.4)	<0.001*
<b>GROSOR MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	462.65 (376.09-571.94)	116.92 (90.52 - 164.12)	<0.001*
<b>GROSOR ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	494.66 (410.40 - 610.47)	279.79 (236.4 - 382.15)	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de las variables diámetro de la luz, grosor íntima y grosor media en grupos HUV de paciente con PE y ACDA, se realizó prueba U de Mann Whitney. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 12). Observando diferencia significativa en todas las variables, excepto en el diámetro de la luz.

Tabla 12. Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre HUV de paciente con PE y ACDA

	<b>HUV PE</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<b>ACDA</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<i>VALOR DE P</i>
<b>DIÁMETRO LUZ</b> (mm)	0.079 (0.06 - 0.09)	0.08 (0.04 - 0.18)	0.857
<b>GROSOR ÍNTIMA</b> ( $\mu\text{m}$ )	40.48 (29.53 - 51.07)	158.5 (100.48 - 246.4)	<0.001*
<b>GROSOR MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	445.89 (402.22 - 497.64)	116.92 (90.52 - 164.12)	<0.001*
<b>GROSOR ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	483.88 (435.38 - 552.61)	279.79 (236.4 - 382.15)	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de las variables diámetro de la luz, grosor íntima y grosor media en grupos AU de pacientes con PE y SV, se realizó prueba U de Mann Whitney. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$ . (Tabla 13). Observando diferencia significativa en todas las variables.

Tabla 13. Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre AU de paciente con PE y SV

	<b>AU PE</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<b>SV</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<i>VALOR DE P</i>
<b>DIÁMETRO LUZ</b> (mm)	0.06 (0.05 - 0.09)	19.42 (12.04 - 34.63)	<0.001*
<b>GROSOR ÍNTIMA</b> ( $\mu\text{m}$ )	157.69 (136.95 - 178.76)	153.68 (133.7 - 227.47)	<0.001*
<b>GROSOR MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	346.85 (327.86 - 389.09)	177.39 (149.78 - 257.44)	<0.001*
<b>GROSOR ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	514.71 (457.46 - 566.51)	6.06 (4.37 - 7.0)	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de las variables diámetro de la luz, grosor íntima y grosor media en grupos AU control y SV, se realizó prueba U de Mann Whitney. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 14). Se observó diferencia significativa en todas las variables.

Tabla 14. Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre AU control con PE y SV

	<b>AU CONTROL</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<b>SV</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<i>VALOR DE P</i>
<b>DIÁMETRO LUZ</b> (mm)	0.053 (0.04 - 0,09)	19.42 (12.04 - 34.63)	$<0.001^*$
<b>GROSOR ÍNTIMA</b> ( $\mu\text{m}$ )	168.18 (119.37 - 191.09)	153.68 (133.7 - 227.47)	$<0.001^*$
<b>GROSOR MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	347.13 (322.95 - 457.10)	177.39 (149.78 - 257.44)	$<0.001^*$
<b>GROSOR ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	437.65 (387.16 - 521.18)	6.06 (4.37 - 7.0)	$<0.001^*$

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de las variables diámetro de la luz, grosor íntima y grosor media en grupos HUV control y SV, se realizó prueba U de Mann Whitney. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 15). Se observó diferencia significativa en todas las variables.

Tabla 15. Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre HUV control y SV

	<b>HUV CONTROL</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<b>SV</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<i>VALOR DE P</i>
<b>DIÁMETRO LUZ</b> (mm)	0.07 (0.05 - 0.09)	19.42 (12.04 - 34.63)	<0.001*
<b>GROSOR ÍNTIMA</b> ( $\mu\text{m}$ )	36.75 (29.69 - 43.34)	153.68 (133.7 - 227.47)	<0.001*
<b>GROSOR MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	462.65 (376.09 - 571.94)	177.39 (149.78 - 257.44)	<0.001*
<b>GROSOR ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	494.66 (410.40 - 610.47)	6.06 (4.37 - 7.0)	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

Para el análisis estadístico de las variables diámetro de la luz, grosor íntima y grosor media en grupos HUV de paciente con PE y SV, se realizó prueba U de Mann Whitney. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 16). Observando diferencia significativa en todas las variables.

Tabla 16. Análisis comparativo del grosor de la pared y el diámetro de la luz entre HUV de paciente con PE y SV

	<b>HUV PE</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<b>SV</b> (MEDIANA, Q1-Q3)	<i>VALOR DE P</i>
<b>DIÁMETRO LUZ</b> (mm)	0.079 (0.06 - 0.09)	19.42 (12.04 - 34.63)	<0.001*
<b>GROSOR ÍNTIMA</b> ( $\mu\text{m}$ )	40.48 (29.53 - 51.07)	153.68 (133.7 - 227.47)	<0.001*
<b>GROSOR MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	445.89 (402.22 - 497.64)	177.39 (149.78 - 257.44)	<0.001*
<b>GROSOR ÍNTIMA-MEDIA</b> ( $\mu\text{m}$ )	483.88 (435.38 - 552.61)	6.06 (4.37 - 7.0)	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

### 3.17 Resultados de la cuantificación de los componentes estructurales de la pared vascular de los vasos umbilicales normales y de las pacientes con PE, la ACDA y la SV

Para el análisis estadístico de las variables: elastina, colágeno y actina específica de músculo liso en los grupos AU de paciente con PE, AU control, HUV de paciente con PE, HUV control, ACDA y SV, se realizó prueba de Kruskal Wallis con corrección post-hoc de Dunnet. Se tomaron como significativos aquellos valores de  $P < 0.05$  (Tabla 17). Observando diferencia significativa en todas las variables, lo que quiere decir que todos los vasos son diferentes entre sí.

Tabla 17. Análisis comparativo de los componentes estructurales de la pared vascular de los vasos umbilicales control y de pacientes con PE, la ACDA y la SV

		AU CONTROL			AU PE			VALOR DE P
		Mediana	Percentiles		Mediana	Percentiles		
			25	75		25	75	
ELASTINA	TÚNICA ÍNTIMA (UDO)	1.66E+10	1.52E+10	1.81E+10	8.38E+09	7.24E+09	9.20E+09	<0.001*
	TÚNICA MEDIA (UDO)	8.38E+09	7.98E+09	9.84E+09	8.95E+09	8.04E+09	9.24E+09	<0.001*
	PARED (UDO)	1.24E+10	1.17E+10	1.39E+10	8.74E+09	7.63E+09	9.24E+09	<0.001*
COLÁGENO	TÚNICA ÍNTIMA (UDO)	2.71E+08	1.86E+08	3.21E+08	2.99E+08	1.85E+07	3.31E+08	<0.001*
	TÚNICA MEDIA (UDO)	2.67E+08	2.44E+08	3.11E+08	2.60E+08	2.08E+07	2.78E+08	<0.001*
	PARED (UDO)	2.57E+08	2.41E+08	3.08E+08	2.81E+08	1.97E+07	2.99E+08	<0.001*
ACTINA ESPECÍFICA DE MÚSCULO LISO	TÚNICA ÍNTIMA (UDO)	1.09E+08	8.16E+07	1.42E+08	1.43E+08	1.24E+08	1.57E+08	<0.001*
	TÚNICA MEDIA (UDO)	1.72E+08	1.43E+08	1.96E+08	1.76E+08	1.51E+08	1.85E+08	<0.001*
	PARED (UDO)	1.33E+08	1.21E+08	1.69E+08	1.59E+08	1.37E+08	1.73E+08	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

		HUV CONTROL			HUV PE			VALOR DE P
		Mediana	Percentiles		Mediana	Percentiles		
			25	75		25	75	
ELASTINA	TÚNICA ÍNTIMA (UDO)	3.22E+09	3.14E+09	4.39E+09	1.19E+07	8.20E+06	1.50E+07	<0.001*
	TÚNICA MEDIA (UDO)	8.26E+09	6.94E+09	9.22E+09	2.30E+07	1.66E+07	2.75E+07	<0.001*
	PARED (UDO)	5.90E+09	5.05E+09	6.65E+09	1.82E+07	1.51E+07	2.27E+07	<0.001*
COLÁGENO	TÚNICA ÍNTIMA (UDO)	1.49E+07	8.44E+06	7.44E+07	3.56E+07	1.37E+07	8.70E+07	<0.001*
	TÚNICA MEDIA (UDO)	7.00E+07	4.20E+07	1.02E+08	6.87E+07	5.58E+07	3.10E+08	<0.001*
	PARED (UDO)	5.38E+07	3.72E+07	6.86E+07	4.89E+07	4.17E+07	1.86E+08	<0.001*
ACTINA ESPECÍFICA DE MÚSCULO LISO	TÚNICA ÍNTIMA (UDO)	2.71E+06	1.75E+06	3.34E+06	3.14E+06	2.12E+06	8.26E+06	<0.001*
	TÚNICA MEDIA (UDO)	8.30E+07	6.35E+07	9.69E+07	9.42E+07	7.84E+07	9.88E+07	<0.001*
	PARED (UDO)	3.22E+09	3.14E+09	4.39E+09	1.19E+07	8.20E+06	1.50E+07	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

		SV			ACDA			VALOR DE P
		Mediana	Percentiles		Mediana	Percentiles		
			25	75		25	75	
ELASTINA	TÚNICA ÍNTIMA (UDO)	7.78E+07	5.16E+07	1.19E+08	9.86E+08	3.05E+08	7.11E+09	<0.001*
	TÚNICA MEDIA (UDO)	2.70E+08	1.88E+08	3.76E+08	4.42E+09	2.32E+09	6.53E+09	<0.001*
	PARED (UDO)	1.74E+08	1.44E+08	2.20E+08	2.36E+09	1.58E+09	7.02E+09	<0.001*
COLÁGENO	TÚNICA ÍNTIMA (UDO)	2.28E+08	7.70E+07	3.32E+08	1.05E+07	6.36E+06	1.53E+08	<0.001*
	TÚNICA MEDIA (UDO)	1.38E+09	8.57E+08	1.63E+09	8.91E+08	4.46E+07	1.35E+09	<0.001*
	PARED (UDO)	7.96E+08	4.86E+08	9.37E+08	5.52E+08	9.88E+07	6.96E+08	<0.001*
ACTINA ESPECÍFICA DE MÚSCULO LISO	TÚNICA ÍNTIMA (UDO)	5.88E+06	2.29E+06	1.50E+07	1.68E+07	5.50E+06	4.41E+07	<0.001*
	TÚNICA MEDIA (UDO)	4.93E+07	3.23E+07	5.04E+08	6.09E+07	8.48E+06	9.77E+07	<0.001*
	PARED (UDO)	2.57E+07	2.02E+07	2.59E+08	4.74E+07	6.36E+06	5.96E+07	<0.001*

\*Diferencia estadísticamente significativa

## CAPÍTULO 4

### DISCUSIÓN

En este estudio se observó que los vasos umbilicales de pacientes con PE presentan características morfológicas en su pared que les permiten ser utilizados como injertos vasculares coronarios. Por lo que se acepta la hipótesis planteada.

Las AU de pacientes sanas presentaron un endotelio integro, seguido de una capa subendotelial gruesa y delimitada por la lámina elástica interna; seguida de la túnica media con dos capas, de acuerdo a la disposición de las fibras, una circular interna y una longitudinal externa. Como se ha reportado con anterioridad en la literatura<sup>(17,18)</sup>.

Por otro lado la AU de pacientes con PE, al igual que las controles, mostró un endotelio integro, tejido subendotelial y lámina elástica interna. El grosor de esta capa disminuyó comparado con las AU de pacientes sanas, dato que se contrapone con lo reportado por Vázquez et al., en el 2016<sup>(15)</sup>. Estos vasos a diferencia de los controles mostraron una túnica media desorganizada, de manera focalizada: mostró engrosamientos en algunas regiones de esta capa, lo que causa pérdida del arreglo de las capas circular y longitudinal observado en los controles. Estos cambios pueden ser debidos al aumento de la presión arterial que presentan estas pacientes<sup>(19)</sup>, lo cual se ve reflejado con este remodelado de la pared vascular de la AU para adaptarse y soportar la presión<sup>(16)</sup>. El grosor de la capa media, al igual que la íntima, se vio disminuido, contrario a lo que descrito



por Vázquez et al., en el 2016, quien también reportó un aumento total del grosor de la pared <sup>(15)</sup>, lo que es opuesto a lo encontrado en el presente estudio.

La HUV de pacientes sanas, mostró una túnica íntima delgada, la cual está compuesta por endotelio y tejido subendotelial, en este último encontramos la presencia de fibras musculares lisas. Seguida de la túnica media compuesta por láminas de fibras musculares lisas, rodeadas de tejido conjuntivo laxo, estos datos que ya han sido reportados en la literatura<sup>(17,18)</sup>.

La HUV de pacientes con PE, mostró una túnica íntima que varió de grosor en algunas regiones a expensas del tejido subendotelial, que en algunas partes se mostró delgado y en otras engrosado comparado con los controles. Este engrosamiento correlaciona con lo reportado por Koech et al., en el 2008<sup>(13)</sup>. En la túnica media se observan las fibras musculares orientadas al azar y rodeadas de tejido conjuntivo, mismo dato mencionado por Koech et al., en el 2008, quien observó el músculo trabeculado y oblicuo pero en el extremo fetal de cordón umbilical<sup>(13)</sup>. En este mismo estudio, Koech et al., reporta un aumento del grosor de la capa media <sup>(13)</sup> , Sin embargo, en nuestro estudio se encontró disminuida, dato opuesto a lo mencionado.

El grosor total de la túnica íntima-media en estos vasos se encontró disminuido, dato que fue reportado por Inan et al., en el 2002 , Sharony et al., en el 2016 y Jain et al., en el 2016; sin embargo, Koech et al., en el 2008 y Blanco et al., en el 2011 reportaron lo contrario. Esta diferencia por lo reportado por los últimos autores puede deberse a que las muestras provenían de pacientes de diferentes semanas de gestación, algunos de ellos eran pretérmino.

La AU de pacientes con PE mostró un grosor de las tunicas íntima y media menor con respecto a la AU de pacientes sanas, sin embargo, los valores de estas mediciones fueron muy similares, por lo que la diferencia estadística no fue significativa. La ACDA presentó un valor de 116.92  $\mu\text{m}$  para la túnica media, siendo esta casi tres veces menor que el grosor de la túnica media de la AU de las pacientes con PE, pero el grosor de la túnica íntima fue similar entre estos dos últimos vasos sanguíneos. El grosor de la túnica media de la AU de pacientes con PE puede favorecer a una mayor resistencia y control de la presión arterial, por la capacidad de expansión y contracción que le confiere el músculo liso principal componente de la túnica media<sup>(20)</sup>. Esta característica puede favorecer a este vaso a soportar mejor la presión arterial que tiene la Aorta al momento de ser trasplantado<sup>(9)</sup>.

El diámetro de la luz entre las AU tanto de pacientes sanas como con PE fue similar al de la ACDA. Lo cual es favorable, ya que el calibre de los vasos que se vayan a elegir como injertos vasculares deben tener el mismo calibre<sup>(3,21)</sup>. Y aunque aquí no lo tomamos en cuenta, pero es importante saberlo, la longitud de los vasos que vayan fungir como sustitutos vasculares también es importante, pues la longitud y la cantidad de puentes que se necesiten en una misma intervención depende de cada paciente. Otro punto a favor de los vasos umbilicales es su longitud, en la literatura ya se ha reportado que la longitud del cordón umbilical va de 10 cms a 1,50 mts<sup>(22)</sup>, otros estudios mencionan que varía de 55-65 cm en promedio en embarazos a término<sup>(23)</sup>.

El material elástico de los vasos se encontró presente tanto en las túnicas íntima y media. La lámina elástica interna, en las AU de pacientes con PE está organizada en 1-3 láminas de elastina, dato que no se ha reportado en la literatura. Esta estructura es similar a la que exhibe la ACDA, en la cual se puede ver la lámina elástica interna organizada en una o dos láminas bien definidas, las cuales pueden estar fragmentadas en distintos sitios. Esto es acorde con lo ya reportado en la literatura<sup>(24)</sup>. Mientras que en las AU de pacientes con PE se observan más gruesas y no rodean toda la túnica íntima del vaso, lo que concuerda con lo reportado por Linda M. Ernst<sup>(17)</sup>. En las HUV de pacientes con PE y de pacientes sanas se observa la lámina elástica interna bien definida en la túnica íntima, rodeando por completo la circunferencia de esta capa, esto también se observó en la SV. Por otra parte, Koech et al., en el 2008, en el extremo fetal, reportó un aumento de la elastina y en pacientes con PE severa observaron la lámina elástica interna duplicada en la HUV<sup>(13)</sup>.

La elastina se encontró similar entre los vasos umbilicales de pacientes con PE, SV y ACDA. Este dato, nos dice que las AU tienen mayor capacidad de distenderse y volver a su tamaño cuando son expuestas a los cambios de presión o aumento del flujo sanguíneo, característica importante en un vaso que busque suplir a otro que maneje altas presiones, como la arteria coronaria<sup>(4)</sup>.

El colágeno, en general, se ve distribuido en toda la pared de los vasos sanguíneos analizados, lo que coincide con lo descrito en la literatura<sup>(25,26)</sup>. La cuantificación del colágeno fue similar en la pared de las AU de pacientes con PE y pacientes sanas, de igual forma se observó en la pared de las HUV de pacientes

sanas y con PE, sin embargo, la túnica íntima de la HUV con PE se vio ligeramente aumentado. La AU de pacientes con PE mostró cantidades similares de colágeno comparado con la SV, sin embargo, fue menor en la ACDA. Y en cuanto al colágeno total de la pared de los vasos fue similar entre la SV y ACDA, pero menor en PE. Apesar de ello, los valores obtenidos de la cuantificación del colágeno en la AU PE y la HUV PE, no se alejan mucho del valor obtenido para la ACDA, lo cual las haría buenas candidatas como sustitutos vasculares, lo que concuerda con lo descrito por Wen-Chu et al., en el 2008, quienes cuantificaron el colágeno en la pared de la HUV sana y la compararon con la AC derecha, reportando cantidades moderadas de colágeno, lo cual hacía apta a la HUV sana como sustituto vascular, por ejemplo, de la AC derecha<sup>(4)</sup>.

En cuanto al colágeno tipo I, este se ve distribuido en toda la pared del vaso, predominando la señal positiva en la túnica media sobre todo en la AU de pacientes con PE. Al momento de cuantificarlo y compararlo entre sí con los demás grupos de vasos sanguíneos analizados, no hubo diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, concuerda con lo descrito en la literatura, que este es uno de los principales tipos de colágeno que componen la pared de los vasos sanguíneos<sup>(19)</sup>. También se cuantificó el colágeno de tipo IV, el cual dio positividad tanto en la túnica íntima como en la túnica media de los vasos estudiados. Se ha descrito que este es una proteína que se encuentra formando parte de las membranas basales de las fibras musculares lisas<sup>(24)</sup>, lo cual explica la intensidad en la túnica media. También se debe considerar que en la túnica íntima de los vasos sanguíneos, propiamente en el tejido subendotelial,

hay algunas fibras musculares lisas<sup>(27)</sup>, motivo por el cual podemos ver señal positiva, con menor intensidad en la túnica íntima.

En el 2002 Romanowicz et al., en un estudio de los vasos umbilicales de pacientes con PE a término, realizado con Western Blot reportaron que los tipos de colágeno más abundantes en la pared vascular son el I, III, IV y V<sup>(25)</sup>. En otro estudio realizado en el 2001 por Silvera Arenas et al., en pacientes con PE se reportó un aumento del colágeno I y disminución relativa del colágeno III<sup>(28)</sup>.

Esta característica es importante, ya que nos sugiere la capacidad que pueden tener estos vasos para resistir cambios que respondan a estímulos mecánicos, como puede ser la presión arterial o la manipulación quirúrgica.

La actina específica de músculo liso dio positividad tanto en la túnica íntima como en la túnica media de todos los vasos, esto es debido a la presencia de fibras musculares en ambas túnicas<sup>(27)</sup>. En la túnica íntima de las arterias musculares suele haber fibras de músculo liso, esto puede deberse a la migración de estas células desde la túnica media a través de las fenestraciones en la lámina elástica interna observadas en las arterias; lo cual ya ha sido reportado previamente<sup>(27)</sup>. En la túnica media, se observó la positividad en todo el grosor de la capa, ya que el músculo liso es el principal componente.

En las cuantificaciones se vio un ligero aumento de la actina específica de músculo liso en la túnica íntima de las AU de pacientes con PE, comparado con la AU de pacientes sanas, sin embargo en la cuantificación total de la pared los resultados fueron muy similares. Las cuantificaciones de colágeno entre HUV

control y HUV de pacientes con PE fueron similares. Comparando estos resultados con la SV y la ACDA, observamos cantidades similares entre la AU de pacientes con PE y la ACDA, y fue mayor todavía en la SV. La HUV de pacientes con PE y la ACDA mostraron una cantidad similar de colágeno en la pared, y la SV fue menor. Estos datos nos sugieren que la pared de los vasos umbilicales de pacientes con PE tienen una buena capacidad contráctil, una buena característica que los haría capaces de soportar cambios en la presión y el flujo sanguíneo.

Los vasos umbilicales de pacientes con PE presentan cambios estructurales en su pared, los cuales pueden ser una respuesta adaptativa a los cambios de presión<sup>(16)</sup>.

## **CAPÍTULO 5**

### **CONCLUSIONES Y PERSPETIVAS**

#### **5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS**

##### **5.1 CONCLUSIONES**

- El calibre de las AU es similar al de ACDA, característica muy importante, que debe ser tomada en cuenta al momento de elegir un injerto vascular.
- El presente estudio demostró que los cambios de presión durante el embarazo inducen cambios estructurales en la pared de los vasos umbilicales.
- Estos cambios asemejan su estructura con el de la arteria coronaria descendente anterior.
- Además, este cambio microestructural que presentan los vasos umbilicales de pacientes con PE, sugiere que tienen una pared resistente, lo que les pudiera ayudar a mejorar su respuesta adaptativa a presiones altas y en un futuro ser propuestos como sustitutos vasculares.

##### **5.2 PERSPECTIVAS**

- Realizar pruebas de biomecánica para analizar la resistencia y elasticidad de la pared vascular.
- Aumentar la muestra a analizar de los vasos umbilicales.

- Realizar otras técnicas especiales, por ejemplo, impregnación argéntica de Wilder para observar y cuantificar las fibras reticulares (colágeno III).
- Probar los vasos umbilicales con PE en un modelo *in vivo* para evaluar su respuesta.



## CAPÍTULO 6

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

#### 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO. OMS | Enfermedades cardiovasculares. WHO [Internet]. 2015 [cited 2017 Sep 18]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>
2. CENETEC. Diagnóstico y tratamiento de la Enfermedad Arterial Periférica.
3. Martínez-González B, Reyes-Hernández CG, Quiroga-Garza A, Rodríguez-Rodríguez VE, Esparza-Hernández CN, Elizondo-Omaña RE, et al. Conduits Used in Coronary Artery Bypass Grafting : A Review of Morphological Studies. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2017;23(2):55–65.
4. Li W, Zhang H, Wang P, Xi G, Wang H. Análisis cuantitativo de la microestructura de la vena umbilical humana para evaluar su viabilidad como sustituto vascular. *Ann Cir Vasc* [Internet]. 2007;22(3):456–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.acvsp.2008.07.018>
5. Vargas H. VM, Acosta A. G, Moreno E. MA. La preeclampsia un problema de salud pública mundial. *Rev Chil Obstet y Ginecol*. 2012;77(6):471–6.
6. González L. R, Seguel S. E, Stockins L. A, Campos M. R, Neira S. L, Alarcón C. E. Cirugía Coronaria : Revascularización miocárdica sin circulación extracorpórea. *Rev Chil Cirugía*. 2009;61:578–81.
7. Brunicardi FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Pollock RE.

- Schwartz Principios de cirugía. In: Vol 1. 8va ed. México: McGraw Hill Interamericana; 2006. p. 654–7.
8. Johnson WC, Lee KK, Affairs V, Study C. A comparative evaluation of polytetrafluoroethylene , umbilical vein , and saphenous vein bypass grafts for revascularization : A prospective randomized Department of Veterans Affairs cooperative study. *J Vasc Surg.* 2000;(112):268–77.
  9. Hamedani BA, Navidbakhsh M, Tafti HA. Comparison between mechanical properties of human saphenous vein and umbilical vein. *Biomed Eng Online.* 2012;11(1):1–15.
  10. Sharony R, Keltz E, Biron-shental T, Kidron D. Morphometric characteristics of the umbilical cord and vessels in fetal growth restriction and pre-eclampsia. *Early Hum Dev* [Internet]. 2016;92:57–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.11.006>
  11. Junek T, Baum O, L  uter H. Pre-eclampsia associated alterations of the elastic fibre system in umbilical cord vessels. *Anat Embryol.* 2000;201:291–303.
  12. Inan S, Vatansever S, Sanc   M, Oztekin O, Can D, Tinar S. Acta Medica Okayama Comparative morphological differences between umbilical cords from chronic hypertensive and preeclamptic pregnancies . between umbilical cords from chronic. *Acta Med Okayama.* 2002;56(4):177–86.
  13. Koech A, Ndungu B, Gichangi P. Structural Changes in Umbilical Vessels in Pregnancy Induced Hypertension. *Placenta.* 2008;29:210–4.

14. Blanco M V, Vega HR, Giuliano R, Grana DR, Azzato F, Lerman J. Histomorphometry of Umbilical Cord Blood Vessels in Preeclampsia. *J Clin Hypertens*. 2011;13(1):30–4.
15. Vázquez Blanco M, Ruda Vega H, Guerri-Guttenberg RA, Giuliano R, Grana DR, Azzato F, et al. Histopathology and histomorphometry of umbilical cord blood vessels . Findings in normal and high risk. *Artery Res*. 2011;117(5):50–7.
16. Jain A, Sharma V, Baweja S, Sharma D, Jain R. Comparative histomorphometric differences between umbilical cords from normal and pre-eclamptic pregnancies. *Indian J Rheumatol* [Internet]. 2016;65(1):38–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jasi.2016.06.006>
17. Ernst LM, Ruchelli ED, Huff DS. *Color Atlas of Fetal and Neonatal Histology*. Springer, editor. New York; 2011.
18. Stehbens WE, Wakefield JSJ, Gilbert-Barness E, Zuccollo JM. Histopathology and Ultrastructure of Human Umbilical Blood Vessels. *Fetal Pediatr Pathol* [Internet]. 2005;24(6):297–315.
19. Risler NR, Miatello RM, Curzado MC. La pared vascular en la hipertensión arterial. *Rev Fed Arg Cardiol*. 2002;31:1–8.
20. Barnwal M, Rath S, Chhabra S, Nanda S. Histomorphometry of Umbilical Cord and its Vessels in Pre- Eclampsia as Compared to Normal Pregnancies. *Nepal J Obstet Gynaecol* [Internet]. 2012;7(1):28–32. Available from: <http://nepjol.info/index.php/NJOG/article/view/8832>

21. Hinojosa-amaya JM, Villarreal-silva EE, Enrique R, O JG, Dávila-canales R, Fernández-zambrano EM, et al. Conduits for myocardial revascularization grafts: The importance of morphology and imaging. *Med Univ.* 2010;12(47):115–9.
22. Riñao Gamboa G. MORFOLOGIA DEL CORDON UMBILICAL HUMANO. *Rev Col Obs y Ginec.* 1966;17(3):203–203.
23. Mills SE. *Histology for Pathologists.* 4th ed. Wilkins LW&, editor. Philadelphia; 2012.
24. Pawlina W, Ross MH. *Histología TEXTO Y ATLAS Correlación con biología celular y molecular* [Internet]. 7ma ed. Kluwer W, editor. Barcelona, España; 2015. 1071 p. Available from: file:///C:/Users/Estudiantes/Downloads/Histología - Texto y atlas a color con biología celular y molecular - 7a edición (Ross, M. y Pawlina, W.).pdf
25. Romanowicz L, Jaworski S. Collagen of umbilical cord vein and its alterations in pre-eclampsia. *Acta Biochim Pol.* 2002;49(2):451–8.
26. Romanowicz L, Galewska Z. Extracellular Matrix Remodeling of the Umbilical Cord in Pre-eclampsia as a Risk Factor for Fetal Hypertension. *J Pregnancy.* 2011;1–9.
27. Rubin R, Strayer DS, Rubin E. *Patología Fundamentos clinopatológicos en medicina.* 6ta ed. Wilkins LW&, editor. Barcelona, España; 2012.
28. Silvera-Arenas LA, Menezes D, Mota E, Arana-Pino A, Lenzi H, Barrios de Zurbarán C. Enfermedad hipertensiva específica del embarazo (pre-

eclampsia): Estudio de la matriz extracelular (colágeno I y II, fibronectina).  
Salud Uninorte Barranquilla. 2001;15(1):3–9.

## CAPÍTULO 7

### APÉNDICE A

#### TÉCNICAS Y MÉTODOS

##### A.1 TÉCNICA HISTOLÓGICA GENERAL

1. Obtención de la pieza
2. Fijación
3. Lavado en agua corriente
  - I. Deshidratación en alcoholes graduales
  - II. Alcohol etílico de 60% ..... 60 minutos
  - III. Alcohol etílico de 70% ..... 60 minutos
  - IV. Alcohol etílico de 80% ..... 60 minutos
  - V. Alcohol etílico de 96% ..... 60 minutos
  - VI. Alcohol etílico de 96% ..... 60 minutos
  - VII. Alcohol etílico absoluto ..... 60 minutos
  - VIII. Etanol absoluto y Xilol (1:1) ..... 60 minutos
4. Aclaramiento (usando xileno)
  - VIII. Xilol ..... 60 minutos
  - IX. Xilol ..... 60 minutos
5. Preinclusión (impregnación en parafina líquida)
  - X. Primer baño ..... 60 minutos
  - XI. Segundo baño ..... 60 minutos
6. Inclusión definitiva (formación del bloque)
7. Microtomía
8. Adhesión de los cortes (baño de flotación)
9. Desparafinación e hidratación
10. Coloración o tinción
11. Deshidratación y aclaramiento
12. Montaje (con resina sintética)

## A.2 TINCIÓN CON HEMATOXILINA Y EOSINA

1. Hidratación del tejido
  - i. Xilol.....5 minutos
  - ii. Etanol-xilol .....5 minutos
  - iii. Etano absoluto .....2 minutos
  - iv. Alcohol 96% .....2 minutos
  - v. Agua destilada .....enjuague lento
2. Inmersión de los cortes en Hematoxilina de Gill..... 3 minutos
3. Diferenciación
  - i. Agua de la llave (2 lavados).....enjuague lento
  - ii. Alcohol-ácido .....1 inmersión rápida
  - iii. Agua de la llave (2 lavados).....enjuague lento
  - iv. Agua amoniacal .....1 inmersión rápida
  - v. Agua de la llave (2 lavados).....enjuague lento
  - vi. Agua destilada .....enjuague lento.
4. Inmersión de los cortes en Eosina.....1 minuto
5. Deshidratación
  - i. Alcohol 96% .....enjuague breve
  - ii. Alcohol 96%.....1 minuto
  - iii. Etanol absoluto (2 cambios)..... 2 minutos
  - iv. Etanol-Xilol .....3 minutos
  - v. Xilol .....2 minutos
  - vi. Xilol .....3 minutos
6. Montaje (resina sintética o Entellan)

### A.3 TRICRÓMICO DE MASSON

Fijación.- Formaldehído al 4 %

Inclusión.- En parafina y cortes de 4-5  $\mu\text{m}$  de espesor.

1. Desparafinar con xilol e hidratar pasando por alcohol y agua destilada.
  - i. Xilol.....5 minutos
  - ii. Etanol-xilol .....5 minutos
  - iii. Etano absoluto .....2 minutos
  - iv. Alcohol 96% .....2 minutos
  - v. Agua destilada .....enjuague lento
2. Usar como “mordente” el fijador de Bouin por 60 min a 56 °C, o toda la noche a temperatura ambiente.
3. Lavar en agua corriente hasta que el color amarillo desaparezca.
4. Enjuagar los cortes en agua destilada.
5. Pasar los cortes a la hematoxilina férrica de Weigert durante 10 min.
6. Lavar en agua corriente: hacer 3 cambios de 15 seg.
7. Enjuagar en agua destilada.
8. Teñir con la solución de Fucsina-Escarlata por 5 seg
9. Lavar varias veces en agua destilada hasta que ésta deje de teñirse.
10. Pasar los cortes a la solución de ácidos fosfomolibdico-fosfotúngstico durante 10 min.
11. Enjuagar brevemente con agua destilada.
12. Colorear con la solución de azul de anilina durante 15 seg
13. Lavar con agua destilada varias veces hasta eliminar el exceso del colorante.
14. Pasar al acético acuoso por 2 min.
15. Deshidratación
  - i. Alcohol 96% .....enjuague breve
  - ii. Alcohol 96%.....1 minuto
  - iii. Etanol absoluto (2 cambios)..... 2 minutos
  - iv. Etanol-Xilol .....3 minutos



v. Xilol .....2 minutos

vi. Xilol .....3 minutos

16. Montaje (resina sintética o Entellan)

#### A.4 TRICRÓMICO DE MASSON MODIFICADO

Fijación.- Formaldehído al 4 %

Inclusión.- En parafina y cortes de 4-5  $\mu$ m de espesor.

1. Desparafinar con xilol e hidratar pasando por alcohol y agua destilada.

vi. Xilol.....5 minutos

vii. Etanol-xilol .....5 minutos

viii. Etano absoluto .....2 minutos

ix. Alcohol 96% .....2 minutos

x. Agua destilada .....enjuague lento

2. Usar como “mordente” el fijador de Bouin por 60 min a 56 °C, o toda la noche a temperatura ambiente.

3. Lavar en agua corriente hasta que el color amarillo desaparezca.

4. Enjuagar los cortes en agua destilada.

5. Pasar los cortes a la hematoxilina férrica de Weigert durante 10 min.

6. Lavar en agua corriente: hacer 3 cambios de 15 seg.

7. Enjuagar en agua destilada.

8. Pasar los cortes a la solución de ácidos fosfomolíbdico-fosfotúngstico durante 10 min.

9. Enjuagar brevemente con agua destilada.

10. Colorear con la solución de azul de anilina durante 5 minutos

11. Lavar con agua destilada varias veces hasta eliminar el exceso del colorante.

12. Pasar al acético acuoso por 2 min.

13. Deshidratación

- vii. Alcohol 96% .....enjuague breve
  - viii. Alcohol 96%.....1 minuto
  - ix. Etanol absoluto (2 cambios)..... 2 minutos
  - x. Etanol-Xilol .....3 minutos
  - xi. Xilol .....2 minutos
  - xii. Xilol .....3 minutos
14. Montaje (resina sintética o Entellan)

### A.5 TINCIÓN CON ORCEÍNA

1. Desparafinizar y llevar los cortes hasta alcohol 70%
  - a) Xilol.....5 min
  - b) Alcohol- Xilol.....5 min
  - c) Alcohol absoluto.....2 min
  - d) Alcohol 96%.....2 min
2. Colorear con soln. de Orceína a 37°C, durante 30 minutos.
3. Lavar bien en agua destilada.
4. Deshidratar aclarar y montar
  - a) Alcohol al 96%.....enjuague breve
  - b) Alcohol al 96%.....1 min
  - c) Alcohol absoluto.....2 min
  - d) Albohol absoluto.....2 min
  - e) Alcohol-Xilol.....3 min
  - f) Xilol.....2min
  - g) Xilol.....3 min

## A.6 TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA LSAB+

Fijar los tejidos con solución de formalina al 4 %

Incluir en parafina

Usar cortes histológicos de 4  $\mu$ m.

1. Desparafinar e hidratar los cortes en las siguientes soluciones:
  - Xilol (2 cambios) 5 min c/u
  - Etanol absoluto 3 min.
  - Etanol 95 % 3 min.
  - Etanol 70 % 3 min.
  - Agua destilada 3 min.
  - Solución Tris-buffer salino + Tween 20 (TBST) 3 min.
2. Recuperar los antígenos con solución (TRS) 40 min. a 100 °C
  - Precalentar TRS por 20 min
  - Meter laminillas al TRS y calentar dentro de la estufa por 10 min
  - Sacar laminillas de la estufa y dejar a temperatura ambiente, dentro del TRS por 10 min.
3. Bloquear la peroxidasa endógena con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 % 10 min.
4. Lavar en solución buffer TBST 3-5 min.
5. Bloqueo de proteínas 30 min.
6. Escurrir solamente (NO lavar)
7. Añadir el anticuerpo primario Toda la noche a 4 °C.
8. Lavar en TBST 3-5 min
9. Añadir el anticuerpo secundario 60 min.
10. Lavar en TBST 3-5 min.
11. Añadir la solución de estreptavidina-HRP 30 min.
12. Lavar en TBST 3-5 min.
13. Revelar con solución de sustrato-cromógeno 10 min.

**CONTRATINCIÓN:**

1. Lavar en agua destilada por 2 min (3 veces).
2. Contrastar con hematoxilina de Gill por 10 seg.
3. Lavar en agua corriente.
4. Enjuagar en agua destilada.
5. Deshidratar gradualmente con:
  - Etanol 70 %, 2 cambios. 3 min c/u
  - Etanol 95 %, 2 cambios. 3 min c/u
  - Etanol 100 %, 2 cambios. 3 min c/u
  - Xilol 2 cambios. 3 min c/u
6. Limpiar el exceso de xilol
7. Montar y almacenar en oscuridad.

## CAPÍTULO 8

### APÉNDICE B

#### SOLUCIONES

##### B.1 ANALISIS MORFOLÓGICO

###### B.1.1 Formalina amortiguada al 4%

Formol al 37%	108 mL
PBS 1x	892 mL

###### B.1.2 PBS 10x

NaCl	80 gr
KCl	2 gr
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	14.4 gr
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.4 gr

- Mezclar en 1 litro de agua destilada.
- Ajustar el pH a 7.4

###### PBS 1x

PBS 10x	100 mL
Agua destilada	900 mL

**B.1.3 Solución de agua amoniacal (virador)**

Agua destilada	99 mL
Hidróxido de amonio	1 mL

**B.1.4 EOSINA solución stock (concentrada)**

Eosina amarillenta	1.0 gr
Agua destilada	20 mL
Alcohol del 96°	80 mL

**Solución de trabajo:**

\*Tomar una parte de la solución stock y agregarla en tres partes de alcohol de 80 °C. Antes de usar agregar 0.5 mL de ácido acético glacial, por cada 100 mL de colorante preparado y agitar.

**B.1.5 Solución de Alcohol-Ácido (Diferenciador o decolorante)**

Alcohol de 70°	99 mL
Ácido clorhídrico (HCl)	1 mL

**B.1.6 Hematoxilina de Gill**

Agua destilada	730 mL
Etilenglicol	250 mL
Hematoxilina anhidra (polvo)	2.0 gr
* Si está en cristales pesar	2.36 gr
Yodato de sodio	0.2 gr

Sulfato de aluminio	17.6 gr
Ácido acético glacial	2.0 mL

\* Para la preparación se debe seguir el orden, en agitación, a temperatura ambiente por 1 hora, filtrar antes de usar por primera vez.

### **B.1.7 Hematoxilina férrica de Weigert**

#### **Solución A**

Hematoxilina (anhidra)	1 gr.
Alcohol de 96º	100 mL

#### **Solución B**

Cloruro férrico acuoso al 29 %	4 mL
Agua destilada	95 mL
Ácido clorhídrico conc.	1 mL

#### **Solución de trabajo:**

Mezclar partes iguales de las soluciones A y B, después debe filtrarse con papel filtro y dejarse madurar. Se puede utilizar al día siguiente. (Debe renovarse periódicamente dependiendo del uso y de consistencia, con el tiempo suele precipitarse).

#### **\* Solución acuosa de cloruro férrico**

Cloruro férrico	14.5 grs.
Agua destilada	50 mL

**B.1.8 Solución de Fucsina ácida y Escarlata de Biebrich**

Escarlata de Biebrich acuosa al 1 %	90 mL
Fucsina ácida acuosa al 1 %	10 mL
Ácido acético glacial	1 mL

**\* Solución acuosa de escarlata de Biebrich al 1%**

Escarlata de Biebrich	1 gr
Agua destilada	100 mL

**\* Solución acuosa de Fucsina ácida al 1%**

Fucsina ácida	1 gr
Agua destilada	100 mL

**B.1.9 Solución de ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico**

Ácido fosfomolibdico	5 grs
Ácido fosfotúngstico.	5 grs.
Agua destilada	200 mL

**B.1.10 Solución de azul de anilina al 2.5%**

Azul de anilina	2.5 grs
Agua destilada	98 mL
Ácido acético glacial	2 mL



**B.1.11 Solución acuosa de ácido acético al 1%.**

Ácido acético glacial	1 mL
Agua destilada	99 mL

**B.1.12 Solución fijadora de Bouin**

Solución acuosa saturada de ácido pícrico	75 mL
Formaldehído (36-38 %)	25 mL
Ácido acético glacial	5 mL

- Se requieren 1.2 grs de ácido pícrico en 100 mL de agua destilada para obtener la solución saturada.

**B.1.13 Solución de Orceína al 1%**

Orceína sintética	1 g
Alcohol 70%	99 ml
Ácido clorhídrico	1 ml

- Disolver la Orceína en alcohol a fuego lento, dejar enfriar y después filtrar. Después se añade el ácido clorhídrico.

**B.1.14 Solución de alcohol-ácido al 1 %**

Alcohol 70%	99 ml
Ácido clorhídrico	1 ml

## **B.2 ANALISIS INMUNOHISTOQUÍMICO**

### **B.2.1 TBST 1x**

TBS 10x	100 mL
Agua destilada	900 mL
Tween 20	500 µL

#### TBS 10x

NaCl	88 gr
KCl	2 gr
Tris base	30 gr

- Aforar en 1 litro de agua destilada.
- El pH debe estar a 7.4

### **B.2.2 Suero de caballo al 10%**

PBS 1x	13.5 mL
Tween 20	100 µL
Suero de Caballo	10 mL

### **B.2.3 Solución DAB**

Cromógeno DAB	1 gota
Sustrato del cromógeno	10 gotas